

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen

Direktor: Professor Dr.Dr. E. Weinig

B R O M N A C H W E I S I M H A R N

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

Vorgelegt von
Dietrich Boettcher
aus Pr.-Eylau



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen

Direktor: Professor Dr.Dr. E. Weinig

B R O M N A C H W E I S I M H A R N

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen



Vorgelegt von
Dietrich Boettcher
aus Pr.-Eylau

Gedruckt mit Erlaubnis der
Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen

Dekan: Professor Dr. N. Henning

Referent: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 25.6.1958

Meinem lieben Vater in Dankbarkeit

Bromnachweis im Harn

	<u>Seite</u>
I. Allgemeiner Teil	
A. Fragestellung der Arbeit. Bedeutung des Broms in der Toxikologie	7
B. Vorkommen des Broms in Organismen	
1. Geschichtliches	8
2. Aufnahme und Ausscheidung	8
3. Physiologischer Bromspiegel im Blut, Harn, Liquor; Brom im Magensaft und in Organen	9
4. Klinische Bedeutung des Broms	
a) Untersuchungen des Bromspiegels bei verschiedenen Krankheitsbildern	14
b) Brom in der Therapie und Vergiftung mit Brom	
aa) Vergiftung mit elementarem Brom	15
bb) Bromid-Therapie und Bromid-Vergiftung	15
cc) Therapie und Vergiftung mit organischen Brompräparaten	18
C. Bromnachweismethoden	20
1. gravimetrische	21
2. titrimetrische	21
3. optische	
a) kolorimetrische	24
b) photometrische	26
4. elektrolytische	26
5. chromatographische	27
6. radiometrische	28
II. Experimenteller Teil	
Entwicklung einer Methode zum Nachweis von Bromid im Harn	
1. Versuch, ein kolorimetrisches Verfahren zu entwickeln	29

2. Entwicklung eines papierchromatographischen Verfahrens

a) Gründe zur Auswahl der Papierchromatographie	30
b) Entwicklung der Methode	30
c) Beseitigung methodischer Mängel	32
d) Endgültige Methodik	33
e) Rf-Werte	36
f) Bestimmung der Quantität	37
g) Ergebnisse	39

Zusammenfassung	42
-----------------	----

Literaturübersicht	I - XIX
--------------------	---------

Allgemeiner Teil

A. Fragestellung der Arbeit. Bedeutung des Broms in der Toxikologie

Während bis zur Jahrhundertwende Brom lediglich in elementarer Form und in anorganischer Bindung toxikologische Bedeutung hatte, werden seit etwa 50 Jahren zunehmend auch organische Bromverbindungen therapeutisch und industriell verwendet, wobei Vergiftungen immer wieder aufgetreten sind. Die Frage nach dem Schicksal und der Bedeutung des Broms im Organismus hat auch heute noch ihre Berechtigung. Es ist zum Beispiel bei bromierten organischen Schlafmitteln immer noch nicht geklärt, in welchem Maße die pharmakologische Wirkung dem Brom bzw. der organischen Brombindung zukommt. Man kennt auch heute noch nicht exakt den pharmakologischen Wirkungsmechanismus einer Bromtherapie, und gerade in neuerer Zeit scheinen sich Beziehungen des physiologischen Bromes im Organismus zu Funktionen des Zentralnervensystems aufzuklären (siehe Wischnewski und Kabranowa; Uranow).

Bei der toxikologischen Analyse verspricht der Nachweis von Brom in vielen Fällen zur Sicherung der Diagnose beizutragen, z.B. bei der Unterscheidung bromierter und bromfreier Barbitursäurederivate. Besondere Bedeutung erlangt der Bromnachweis im Harn bei der Klärung der Frage, ob bromierte Harnstoffderivate aufgenommen worden sind, da diese zum größten Teil (z.B. das am häufigsten verwendete Adalin) oder völlig (vermutlich Bromural) im Körper so abgebaut werden, daß ein charakteristischer Nachweis im Harn nicht mehr möglich ist. Erst vor kurzem konnte Gg. Schmidt¹ α -äthyl- α -oxybuttersäure als Ausscheidungsprodukt von Adalin nachweisen, wobei nur wenige Prozent der aufgenommenen Menge in Form dieser Substanz im Harn erscheinen. Bromural ist im Harn noch nicht nachgewiesen worden, auch konnte noch kein Ausscheidungsprodukt nachgewiesen werden. Somit stellt gerade bei Verdacht auf Bromural-Vergiftung der Nachweis vermehrten Harnbromgehaltes ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel dar.

Ein einfacher, aber spezifischer und empfindlicher Bromnachweis im biologischen Material ist daher wünschenswert. Wir haben versucht, eine solche Methode auszuarbeiten, nachdem wir bei Durchsicht der gesamten einschlägigen Literatur kein genügend empfindliches, spezifisches und einfach durchzuführendes Bestimmungsverfahren finden konnten. Hierbei mußte auch die Frage des normalen Vorkommens von Brom im Organismus geprüft werden, denn nur nach Kenntnis der normaler-

weise zu erwartenden Brommengen können Rückschlüsse auf die Aufnahme bromhaltiger Substanzen und auf deren mögliche Giftwirkung gezogen werden.

Nicht alle Autoren, die sich bisher mit der Bromverteilung und Bromidausscheidung im Organismus bei Einwirkung von bromierten Harnstoffderivaten befaßt haben, berücksichtigen bei ihren Untersuchungen die Existenz "physiologischer" Brommengen (Kwan, Takeda, Wojahn).

B. Vorkommen des Bromes in Organismen

1. Geschichtliches

Brom wurde 1826 von A.J. Balard in den Mutterlaugen der Mittelmeersalinen entdeckt. Es wurde zunächst Muride genannt, dann Brom (βρῶμος = Gestank). Recht bald wußte man, daß es in der Pflanzen- und Tierwelt des Meeres existiert, und zwar vorwiegend in organischer Bindung. Aus den Anthozoen wurde das 3,5-Dibromtyrosin (C.Th. Mörner) und aus marinen Schnecken 6,6-Dibromindigo (P. Friedländer) isoliert. Über das Vorkommen des Broms im menschlichen Organismus herrschte noch lange kein klares Bild. 1919 schreibt Pillat, daß Brom im menschlichen Organismus nicht vorzukommen scheine, und im Handbuch der experimentellen Pharmakologie von A. Heffter und W. Heubner (S. 300) wird 1927 festgestellt: "Ob Brom im tierischen und menschlichen Organismus normalerweise vorkommt, kann nicht mit absoluter Sicherheit entschieden werden." Heute kann man es als ubiquitäres Spurenelement in allen pflanzlichen und tierischen Lebewesen qualitativ sicher nachweisen. Über die Quantität gehen die Meinungen sehr auseinander.

2. Aufnahme und Ausscheidung

Den Weg des Broms von der unbelebten Materie in die Pflanze und von dieser über das Tier oder direkt in den Menschen hat Damiens in systematischen Versuchsreihen nachgewiesen. A. Damiens und S. Blaignan geben umfangreiche Tabellen über den Bromgehalt der verschiedenen Pflanzen an. In direkter Form nimmt der Mensch Bromid mit dem Kochsalz und in Spuren sogar mit dem Wasser auf (Damiens). Es ist im menschlichen Organismus hauptsächlich in Form des anorganischen Bromids anzutreffen. Organisch wird Brom wahrscheinlich primär in Form des Dibromtyrosin gebunden (Abelin und Poretti). Nach Leipert¹ findet sich Brom im Organismus nur in Ionenform.

Die Ausscheidung erfolgt im wesentlichen mit dem Harn, wie Damiens mit

eigener Methode nachwies und in neuerer Zeit mit radioaktivem Br^{82} von Howarth, Worobjew, Werchowskaja² nachgewiesen werden konnte (siehe auch Abelin und Poretti). In sehr geringem Maße wird Brom mit dem Stuhl (Damiens, Worobjew) und Magensaft (Damiens, Gabrieli) ausgeschieden. Nach Bodansky und Modell findet bei hohem Serumbromidspiegel über die Verdauungssekrete des Darmes Bromelimierung bis zu 20 % der Gesamtbromidausscheidung statt. Auch durch Haut und Schleimhäute findet eine Ausscheidung statt. Heffter-Heubner erklären so Exantheme (Bromakne) und Schleimhautkatarrhe bei Bromismus. Durch Speichel, Schweiß, Milch, Gallensaft, Tränen und Magensaft können ebenfalls geringfügige Mengen ausgeschieden werden (Goodman und Gilman, S.158 und Else Petri, S.130). Die Ausscheidung wird durch Diurese und Verabreichung von Chloridmengen begünstigt. Es besteht eine Parallele im Bromgehalt von Blut und Urin. Worobjew stellte fest, daß nach Injektion von Br^{82} ($\mu\text{C/g}$ Körpergewicht) bei weißen Ratten im Urin die Ausscheidung nach 96 - 120 Stunden stark zurückging und dann auf einem gewissen Niveau längere Zeit stehenblieb. Auch beim Menschen konnte ein gleichartiger verzögerter Ausscheidungsmodus gefunden werden (Damiens, Ssidelnikowa und Rosina u.a.).

Nach Møller¹ (S. 631) läßt sich ein verzögerter Ausscheidungsmodus so erklären, daß die Niere keinen Unterschied zwischen Bromid und Chlorid macht. Die Gesamthalogenide werden auf einem konstanten Wert erhalten. Ist der Prozentsatz an Bromid hoch, so wird relativ viel Bromid ausgeschieden. Sinkt der Bromidspiegel, so nimmt auch der prozentuale Bromidanteil der ausgeschiedenen Halogenide ab. Wird viel Chlorid zugeführt, so wird auch viel Halogenid ausgeschieden und somit passiv mehr Bromid eliminiert.

Nach Goodman und Gilman (S.158) ist die Niere bestrebt, den Gesamthalogenspiegel der extracellulären Flüssigkeit konstant zu halten, resorbiert aber vorzugsweise Bromid und scheidet vorzugsweise Chlorid aus.

3. Physiologischer Bromspiegel

Blut

Die Angaben über den Blutbromspiegel beim gesunden erwachsenen Menschen ohne Zufuhr bromhaltiger Pharmaka sind sehr verschieden. Sie liegen zwischen 0,05 und 2 mg % (s.Tabelle). Dieser Verschiedenheit liegen mehrere Ursachen zugrunde:

Normaler Blut-Brom-Gehalt
nach verschiedenen Autoren

0,1	- 1,4	mg % Br	Pincussen, L. u. Roman, W.	1929
0,51	- 0,56	"	Kuronami, T.	1932
0,75		"	Klimke u. Holthaus	1932
0,75	- 1,1	"	Zondek, H.	1933
0,85	- 0,46	"	Quastel, J.H. u. Yates, E.D.	1934
0,11	- 0,98	"	Urechia, C.I. u. Retezeanu, A.	1934
0,39	- 1,35	"	Dixon, T.F. ³	1935
0,20	- 2,00	"	Guillaumin, Ch.-O. u. Merejkowski, B. ²	1935
0,50	- 0,78	"	Indovina, R. ²	1935
0,16	- 0,40	"	Leipert, Th. ¹	1935
0,15	- 0,35	"	Ucko, H. ²	1936
0,227	- 0,572	"	Conway, E.J. u. Flood, J.C.	1936
0,33	- 1,73	"	Wikoff, H.L., Brunner, R.A. u. Allison, H.W.	1940
0,5	- 1,0	"	Abelin, I. u. Poretti, G.	1952
0,3	- 1,1	"	Straub, J.	1954
0,280		"	Birjukowitsch, P.W. u. Schtutman, Z.	1955
0,11	- 0,69	"	Bellotti, R., Ravera, M. u. Correale, L.	1956
0,5	- 1,0	"	Moeschlin, S.	1956
0,096	- 0,120	mg % Br	Männer } Gorlitzer, V., v. Mundy	
0,053	- 0,100	"	Frauen } u. Kowald, E.	1952
0,299		"	Frauen } Finotti, A.	1951
			(nicht gravide)	
12,5	- 14,1	"	Säuglinge } Wischniewski, Ju. B.	
5,0	- 7,0	"	4. - 7. Lebensjahr } u. Kabranowa, L.A.	1955
0,2	- 1,0	"	Kinder } Grüninger, U.	1938

1. Lokale Schwankungen (nach B. Flaschenträger und E. Lehnartz¹ um 180 - 270 %), die durch verschiedenen Bromgehalt des Kochsalzes usw. bedingt sein können. Straub gibt örtlich verschiedene Bromwerte für Wien (0,3 mg %), Budapest (0,54 mg %) und Debrecen (1,94 mg %) an.
2. Nicht lokal bedingte Schwankungen. Diese können ihre Ursache haben
 - a) in einer physiologischen Schwankungsbreite beim gesunden Erwachsenen
 - b) in einer altersbedingten Verschiedenheit des Bromspiegels.
Iberti und Fabbrini weisen auf Unterschiede bei verschiedenen Altersstufen hin. Grüniger gibt bei Kindern Werte von 0,2 - 1 mg % an, Wischnewski und Kabranowa geben bei gesunden Säuglingen einen Blutbromspiegel von 12,5 - 14,1 mg % an, der während des 2. und 3. Lebensjahres abfällt und im 4. - 7. Lebensjahr 5 - 7 mg % erreicht. Im Schulalter erfolgt wieder ein Anstieg, der bei Beginn der Geschlechtsreife von einem Abfall abgelöst wird. Dann wieder 5 - 7 mg %. Sie sehen einen Zusammenhang zwischen hohem Blutbromgehalt und niedriger Reizbarkeit der Hirnrinde. Während der Entwicklung der bedingt reflektorischen Tätigkeit und des Überwiegens der Reizvorgänge gegenüber den hemmenden Vorgängen gehen die Blutbromwerte zurück. Besonders niedrig sollen sie in den Lebensphasen sein, in denen Unbeständigkeit des emotionalen Lebens, häufiger Stimmungswechsel, hormonale Verschiebungen im Vordergrund stehen. Krylow fand gesetzmäßige Veränderungen des Blutbromspiegels während der individuellen Entwicklung bei Hunden.
 - c) in einer individuellen Kost. R. Bellotti, M. Ravera und L. Correale stellten in Kaninchenversuchen fest, daß Tiere, die mit einer grünen Kost ernährt wurden, einen weit höheren Organismuspiegel aufwiesen, als solche Tiere, die mit einer trockenen Kost gefüttert wurden.
 - d) im großen Stapelungsvermögen des Körpers für Brom (Flaschenträger und Lehnartz¹).
 - e) in dem Geschlecht der untersuchten Person.
Gorlitzer, v. Mundy und Kowald stellten bei männlichen Personen einen höheren Blutbromspiegel fest als bei weiblichen Personen (siehe Tabelle).

f) In einer Gravidität. Finotti stellte bei Graviden einen gegenüber Nichtgraviden erhöhten Bromspiegel am Ende der Schwangerschaft und im Wochenbett fest.

g) in den Mängeln der verschiedenen Nachweismethoden (siehe Abschnitt über Bromnachweismethoden).

Harn

Die normale Eliminierung im Harn beträgt nach Damiens 2 mg, nach Lang-Panke 3 - 5 mg, nach Leipert¹ 3 - 5 mg, nach Flaschenträger und Lehnartz² 7 mg pro Tag. G. Hunter² findet einen durchschnittlichen Urinbromspiegel von 0,21 mg %, Straub Harnbromwerte von 0,42 - 1,94 mg%.

Liquor

Der Liquorbromspiegel wird von Corsini mit 0,1 mg % angegeben, von Zondek und Bier¹ mit 0,1 - 0,15 mg % und von Leipert und Watzlawek¹ mit 0,16 - 0,40 mg %. Urechia und Retezeanu berichten über einen Liquorbromspiegel von 0,50 - 0,75 mg % im Lumbal-Liquor und von 0,58 - 0,89 mg % im Cisternal-Liquor (was etwa ihren gefundenen Blutbromwerten gleichkommt). Der Quotient Plasmabrom: Liquorbrom soll nach Walter¹ normalerweise 2,9 - 3,3 betragen. Bei Kindern soll er niedriger liegen, bis zu 1,94, häufig um 2,5 (Kruse). Die Verschiedenheit der Bromverteilung in Liquor und Blut wurde von Walter¹ als Grundlage einer Methode zur Prüfung der Permeabilität der Blutliquorschranke genutzt.

Magensaft

Der Magensaft von Patienten, die mit Bromiden behandelt wurden, soll nach Goodman und Gilman (S.158) HBr enthalten. Nach Gabrieli kann das Brom im Magensaft nur das neutrale Chlorid ersetzen. (Nach Injektion von Histamin ist der Gehalt von Br⁸² im Magensaft höher als im Plasma. Die relative Konzentration sinkt aber, wenn Sekretion und Acidität steigen. Die relative Konzentration steigt, wenn am Ende der Histamin-Wirkung die Acidität fällt.)

Organe

Die Organe werden allgemein als verschieden bromhaltig angegeben. Nach Hoppe-Seyler/Thierfelder¹ soll sich aber der Brom- und Chlorgehalt etwa analog verhalten. Die Hypophyse weist die größte Variabilität im Bromgehalt auf (Werchowskaja³). Häufig wurden sehr hohe Werte gefunden. Zondek und Bier²: 15 - 30 mg %, dabei sollen sich die Werte

während des Schlafs ändern. Bernhardt und Ucko¹ fanden in der Hypophyse das bromreichste Organ: 15 - 30 mg % beim Menschen, bis zu 12,5 mg % bei Hunden. Nach Flaschenträger und Lehnartz³ beträgt der Bromgehalt der Hypophyse eines Hundes 12 - 30 mg %, während die anderen Organe nur 0,07 bis 5 mg % enthalten. Zondek und Bier²⁻⁴ nahmen an, daß die Hypophyse ein bromhaltiges Hormon produziert, das der Schlafauslösung zuzuordnen ist. Damiens fand in seinen Untersuchungen keine Bestätigung dafür.

Als sehr bromreich wird die Thyreoidea angesehen (Abelin und Foretti). Nach Neufeld¹ ist sie das bromreichste Organ. Turetzkaja findet einen Bromgehalt von 2,37 bis 3,04 mg % in der frischen Thyreoidea, Bernhardt und Ucko¹ 0,9 - 1,4 mg % beim Menschen und gleichartige Werte bei Hunden. Worobjew stellt eine gewisse Parallelität in den Schwankungen des Bromgehaltes von Thyreoidea und Hypophyse fest. Relativ viel Brom konnte man auch in den Nieren¹⁻³ und der Magenschleimhaut² nachweisen (Werchowskaja¹⁻³). Einen mittleren Bromspiegel weisen Lungen, Leber, Milz, Nebennieren, Speichel-, Lymph- und Samen-drüsen sowie die Eierstöcke auf (Werchowskaja², Worobjew). Bernhardt und Ucko¹ geben einen Leber-Bromgehalt von 0,6 bis 0,75 mg % an. Worobjew findet eine Parallelität zwischen Blutbromspiegel und dem Bromgehalt in der Leber. Die wenigste Aktivität von zugeführtem Br⁸² konnte Werchowskaja¹⁻³ in den Muskeln und im Gehirn, außer Hypothalamus und Hypophyse, Worobjew in den Gehirnhemisphären und im Kleinhirn nachweisen. Dixon¹ fand im Gehirn einen Bromgehalt von 0,2 mg %. G.J. Batrak und Gutina stellten in Hundeversuchen fest, daß die Höhe des Bromgehaltes in den einzelnen Gehirnabschnitten vom Bromspiegel im Blut abhängig ist und in der grauen Substanz größere Brommengen nachweisbar sind, als in der weißen Substanz. In der Rinde fanden sie höhere Werte als im verlängerten Mark. Uranow führte Untersuchungen an 24 Katzen und 22 Hunden durch. Er injizierte 50 mg pro kg Coffein über 7 Tage mit oder ohne einmalige Phenacetininjektion von 10 mg pro kg und gab anschließend Natriumbromid⁸² (mit einer Aktivität von $\mu\text{C/kg}$). Dies führte zu einer starken Speicherung von Brom im Gehirn und Nervus vagus. Während des Schlafes wird diese Bromspeicherung im Gegensatz zur Erregung herabgesetzt. Die Zunahme des Bromgehaltes bei Erregung sieht er als Schutzmechanismus des Nervensystems an. Flaschenträger und Lehnartz¹ wiesen neben einem allgemeinen Stapelungsvermögen des Körpers für Brom auf das der roten Blutkörperchen hin

(Leipert², Karp und Wolfsohn, Dunn und McIntyre). Nach Goodman und Gilman (S.159) geht Bromid leicht diaplacentar auf den Fötus über.

4. Klinische Bedeutung des Broms

a) Untersuchungen des Bromspiegels bei verschiedenen Krankheitsbildern.

Untersuchungen über das Verhalten des Bromspiegels bei Krankheiten führten R.Bellotti, Ravera, M. und Corrales, L. durch und fanden keine Abweichungen vom Bromspiegel gesunder Personen bei Patienten, die an Diabetes mellitus, Ikterus, Krankheiten des Verdauungsapparates, Infektionskrankheiten, Morbus Basedow oder Herzgefäßerkrankungen litten. Gorlitzer, v. Mundt und Kowald stellten dagegen bei 20 Fällen von Schilddrüsenüberfunktionszuständen einen erhöhten Blutbromspiegel fest. Die Werte laufen dem Grundumsatz etwa parallel. Wischniewski fand bei Kindern mit Rheumatismus im akuten Stadium einen erhöhten Bromspiegel bis zu 10,4 - 18,7 mg %. Der Bromspiegel sinkt während der Genesung.

Bei 3 Meningitiden fand F. Corsini eine Abnahme des Liquorbromgehaltes auf 0,01 - 0,043 mg %. Nach Lumbalpunktionen änderte sich der Liquorbromspiegel nicht. Im Jahre 1932 veröffentlichten Zondek und Bier² eine Arbeit, in der sie mitteilten, daß der Blutbromspiegel bei manisch-depressiven Irren um 40 - 60 % erniedrigt gefunden wurde (nach der Methode von Roman). Sie teilten 1933 mit, daß auch bei anderen Psychosen und bei organischen Hirnaffektionen niedrige Bromwerte gefunden wurden (Zondek und Bier⁵). Auch Klimke und Holthaus fanden erniedrigte Bromwerte bei verschiedenen psychischen Grundkrankheiten mit psychomotorischer Unruhe. Diese Feststellungen führten zu zahlreichen Arbeiten über den Blutbromgehalt bei Psychosen, die aber der Kritik an der Methode von chemischer Seite, ebenso wie die Methode von Roman, nicht standhielten.

Leipert und Watzlawek¹ fanden 1935 bei Geisteskranken beträchtliche Abweichungen auf höhere als auch niedere Werte (0,085 - 0,851 mg %) im Vergleich zu den von ihnen gefundenen normalen Blutbromwerten. Meier und Schlientz konnten 1936 mit der Methode nach Leipert und Watzlawek² keine Beziehungen zwischen Stimmungslage von Patienten und ihrem Blutbromspiegel erkennen. (Sie führten bei 35 Patienten 246 Brombestimmungen durch.) Birjukowitsch und Schutman veröffentlichten 1956 ihre wiederholten Blutbromuntersuchungen an mehr als 60 Patienten mit manisch-depressivem Irresein, die sie ebenfalls

nach der Leipert-Watzlawek-Methode durchführten. Ihre Untersuchungen ergaben stark herabgesetzten Bromspiegel während der maniakalischen und depressiven Phase als auch im Stadium der Remission, wobei die Werte während des Anfalls niedriger lagen, als im Remissionszustand, bei dem vorübergehend eine Normalisierung eintreten kann. Bei Bromabnahme im Blut nahm meist der Harnspiegel zu und umgekehrt, woraus Birjukowitsch und Schtutman schlossen, daß das Absinken des Blutspiegels auf die vermehrte Ausscheidung im Harn zurückzuführen sei. Der Streit um den erniedrigten Bromspiegel bei Psychosen zeigt sehr deutlich, wie vorsichtig die bisherigen Ergebnisse von Bromuntersuchungen zu werten sind.

b) Brom in der Therapie und Vergiftung mit Brom

aa) Vergiftung mit elementarem Brom

In der Literatur finden sich 2 Angaben über Suicide mit elementarem Brom. 30 g Brom töteten einen Menschen in 7 Stunden, wie Snell berichtet, und Schmalfuß beschreibt einen Suicid mit 90 g Brom. Bromdämpfe führen zu Verätzung mit Blasenbildung an Haut und Schleimhäuten, die gelb bis braun verfärbt werden (Sehrwald). Herzentzündungen und Blutungen in den Lungen sowie Lungenödem werden beschrieben. Schon in großer Verdünnung (1:100 000) eingeatmet, führen Bromdämpfe zu Bronchitis und Bronchopneumonie (Möller¹, S.630). Brom per os führt zu Entzündung und Nekrosen der Schleimhäute.

bb) Bromidtherapie und Bromidvergiftung

Zu therapeutischen Zwecken werden Bromide auch heute noch als Sedativa angewandt. Sie werden per os leicht resorbiert. Es handelt sich im wesentlichen um die Alkalibromide, doch finden auch NH_4Br , LiBr , RbBr und SrBr Anwendung. Die pharmakologische Wirkung der Kationen muß dabei berücksichtigt werden. So kann es bei KBr -Gaben zu Herzstörungen kommen. Bei NH_4Br -Gaben steht bei großen Dosen die NH_4^+ -Wirkung im Vordergrund. 1835 wurde KBr in die englische Pharmakopoe zur Behandlung der Splenomegalie eingeführt (Goodman und Gilman, S.156).

Man dämpft mit Bromid Erregungszustände bei Neurosen, Thyreotoxikosen, Hypertonie und Epilepsie (= von Charles Locock 1857 zum erstenmal vorgeschlagen) sowie bei allgemeiner Nervosität. Nach Gorlitzer, v.Mundy und Kowald ist die Wirkung einer Bromsalz-

medikation nur durch direkte Wirkung auf die Großhirnrinde bedingt und von kurzer Dauer. Es ist interessant, daß Br^{82} in Nervenzellen nachgewiesen werden konnte (Goodman und Gilman, S.157).

Bradley, Davidsson, Mc.Intyre und Rapoport stellten bei Bestimmung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens nach oraler Gabe von NaBr^{82} mit einem "Glanzkörperzähler" fest, daß die Hauptverteilung zwischen 4 und 24 Stunden nach der Einnahme erfolgt und daß danach keine merkbare Verteilung mehr stattfindet.

Zeitweilig wurde NaBr als Kontrastmittel zur Cysto- und Pyelographie verwendet. Dies gab die Möglichkeit örtlicher Schädigung in den Harnwegen. E.Petri (S.131) zitiert nach Hindse-Nielsen einen derartigen Fall mit tödlichem Ausgang.

Es kommt vor, daß Patienten zu hohe Dosen aufnehmen und sich eine Bromidvergiftung (= Bromismus) zuziehen. Es handelt sich meist um chronische Vergiftungen. Die Gefahr einer Bromvergiftung ist bei Alkoholikern und Patienten, die eine salzlose Diät erhalten, größer. Bromismus äußert sich in Schwindel, Kopfschmerz, Müdigkeit, Asthma, Lungenödem, Abmagerung, Herzklopfen, leichter Temperatursteigerung, Schleimhautkatarrhen (Rhinitis, Conjunctivitis, Bronchitis, Magen-Darmkatarrh).

Symptome seitens des Nervensystems: Schwindel, Gedächtnisschwäche, Unruhe, Benommenheit, Verwirrtheit, Halluzinationen, schizoide Zustände. Toxische Psychosen wurden beobachtet, wenn mehr als 30 % des Körperchlors durch Brom ersetzt waren (L.Meyler). Nach Goodman und Gilman (S.159) sind die geistigen Störungen am hervorstechendsten. Die Symptome können allen organischen und funktionellen Krankheiten ähneln. EEG-Veränderungen bei hohem Serumbromidspiegel konnten von Greenblatt festgestellt werden. Tremor, Ataxie, Motilitätsstörungen, Reflexstörungen, Paresen, Sensibilitätsstörungen, erschwertes Sprechen, Sehstörungen, Papillenödem, Nystagmus, Ptosis der Augenlider, Convulsionen und Harnverhaltungen können noch als neurologische Störungen genannt werden.

Mannigfaltige Hautveränderungen werden beobachtet:

Erytheme, Urticaria, Roseola, Purpura, papulo-pustulöse und bullöse Exantheme, Erythema exsudativum multiforme, Erythema nodosum, Ekzeme, Furunkel und Geschwüre. Das Bromoderma zeigt tumorartige Gestaltung in mannigfaltigen Formen (erbsen- bis haselnußgroße fleischfarbige oder dunkelbraune Gebilde, meist neben Geschwüren oder dunklen, harten, in der Mitte eingesunkenen Infiltrationen angeordnet (L.Lewin)).

Die Haut dieser Partien zeigt Hautdrüsenentzündung und vergrößerte Hauptpapillen. Es kann auch zu Entzündungen und Wucherungsvorgängen an den Gefäßen und zu Abszessen kommen. Nach Goodman und Gilman (S.159) zeigen nur 25 % der Patienten Hautausschläge. Als wichtigste Hautveränderung gilt die Bromakne, die bei empfindlichen Personen bald nach der Bromeinnahme auftreten kann. Die Erscheinungen des Bromismus können bei Überempfindlichkeit bei sehr geringen Dosen beobachtet werden (H.Fühner). Anatomisch faßbare Eingeweideveränderungen sind beim Menschen nicht bekannt (E.Petri, S.131).

Als verantwortlich für den Bromismus wird die Verdrängung des Chlorids durch Brom angesehen (H.Fühner, v.Wyss¹⁻³), doch dürfte auch eine direkte toxische Wirksamkeit des Bromes eine Rolle spielen. (Heffter-Heubner, S. 315). Hiatt ersetzte bei Hunden 40 % des Serumchlorides durch Nitrat und fand keine Änderungen im Verhalten oder Krankheitserscheinungen. Sogar noch stärkere Hypochlorämie ergab keine Symptome ähnlich der Bromidvergiftung.

Hussar und Holley fanden bei 5 Fällen von Bromidvergiftungen einen erheblich erhöhten Blutbromspiegel bis zu 420 mg %. Die Vergiftungssymptome schwanden bei einem Blutbromgehalt von 100 mg %. Nach Goodman und Gilman (S.160) liegt ein toxischer Serumbromidspiegel bei Werten von 150 - 200 mg %.

Auch Olivarius beschreibt 3 Fälle, bei denen nach Einnahme von Mixtura nervina psychische Störungen auftraten. Auch er fand einen KBr-Wert von über 400 mg % im Blut. Olson berichtet über 79 Fälle von Bromidvergiftung infolge Überdosierung.- Bei einem Bromidspiegel von 75 - 100 mg % muß Bromid als Schuldiger für unerklärliche geistige und neurologische Symptome angesehen werden (Goodman und Gilman, S.160). Küßner beschreibt einen Todesfall nach Aufnahme von 75 g KBr in 2 Tagen und Jaquet einen Fall, der nach täglicher Aufnahme von 2 - 3 g KBr über 4 Wochen in ein Coma geriet und starb. Nach Goodman und Gilman (S. 159) endet die akute Bromidvergiftung im Tierversuch in Atemstillstand und Kreislaufkollaps.

Die Intoxikationen werden mit NH_4Cl - oder NaCl -Gaben per os oder parenteral behandelt (6 - 10 g pro Tag in mehreren Portionen), wobei durch NH_4Cl Brom schneller ausgeschieden wird (Cornbleet). Die Flüssigkeitsmenge soll mindestens 4 Liter pro Tag betragen (Goodman und Gilman, S. 161). Møller¹ (S.632) empfiehlt Theophyllin

per os, durch das die Bromid- als auch die Chloridausscheidung stark vermehrt werden soll. Hussar und Holley behandeln am günstigsten mit 2 ccm Mercurhydrin, einem quecksilberhaltigen Diureticum in Verbindung mit 1,5 bis 6 g NH_4Cl . Auch Nicotinsäureamid (750 g mg pro Tag) soll günstig wirken (L. Meyler, S.120), sowie Nebennierenrindenextrakt (H. Fühner). Zur schnellen Senkung des Bromidspiegels im Ernstfall wird von Goodman und Gilman (S.161) nach Merrill und Weller die Hämodialyse mit künstlicher Niere empfohlen.

In den USA wird von Hodges und Gilmour zur Verminderung der Vergiftungsgefahr eine gesetzliche Regelung über die Anwendung von Bromiden verlangt. Olivarius (Dänemark) schlägt vor, Brompräparate unter Rezeptzwang zu stellen.

cc) Therapie und Vergiftung mit organischen Brompräparaten

Brom befindet sich auch in einigen organischen Substanzen, die Eingang in die Therapie gefunden haben. Wichtig sind hier die halogenierten Schlafmittel der Harnstoffreihe wie:

Adalin = Brom-diäthyl-acetyl-Harnstoff

Abasin = Acetyl-brom-diäthyl-acetyl-Harnstoff

Bromural = Monobrom-isovalerianyl-Harnstoff

Pernocton = Isobutyl-brompropenyl-Barbitursäure

Noctal = 5,5-isopropyl- β -bromallyl-Barbitursäure

Vesperone = 5,5-allyl-bromallyl-Barbitursäure

sowie die den Bromureiden chemisch und toxikologisch nahestehenden Mittel

Neuronal = Brom-diäthyl-acetamid

Neodorm = Brom-isopropyl-butyramid.

Hier wird durch Bindung des Bromes an Kohlenstoff im Molekül die narkotische Wirkung schlaferzeugender Substanzen potenziert. Obwohl die Dosis letalis dieser Stoffe von der Dosis hypnotica relativ weit entfernt liegt, werden Vergiftungen mit suizidaler Absicht und Todesfälle nach Einnahme entsprechend hoher Dosen beschrieben. Fühner gibt z.B. für Bromural und Adalin Dosen von 15 - 20 g als tödlich an, was etwa der vierzigfachen Dosis der Schlafgabe entspricht. Wojahn, Balázs, Gerhartz und Grigassi geben tödliche Vergiftungen mit Adalin nach Aufnahme von 20 - 50 g an. Auch mit den anderen genannten bromierten Schlafmitteln sind Vergiftungsfälle bekannt. Nach Adalinaufnahme konnte Eidler das Brom

des Adalins zu 86,74 % als anorganisches Alkalibromid und nur zu 2,78 % als organisches Bromid im Urin wiederfinden.

Kwan und Takeda konnten auch bei Bromural und Neuronal das abgespaltene Bromid nachweisen. So bleibt auch hier der Nachweis eines erhöhten Bromspiegels ein Hilfsmittel in der Diagnostik von Vergiftungen. Die Therapie dieser Intoxikationen entspricht der der Schlafmittelvergiftung. Einige bromierte Kohlenwasserstoffe sind toxikologisch ebenfalls von Wichtigkeit. In der Industrie werden die giftigen Stoffe Äthylbromid, Äthylendibromid und Methylbromid verwandt, die durch Einatmung zu lokaler Reizung der Schleimhaut der Luftwege und auch zu Todesfällen führen können, die bei Äthylendibromid wahrscheinlich durch Kreislaufstörungen und Lähmung des ZNS herbeigeführt werden. Bei Methylbromidvergiftung kommt es zu psychischer Unruhe, Tobsuchtsanfällen, schließlich unter epilepsieartigen und tetanischen Zuckungen zu Bewußtlosigkeit und Tod. In den Lungen wurden Ödeme, Entzündungen und Parenchymlutungen festgestellt. Tiere gingen an akutem Lungenödem zugrunde. Bei Äthylbromidvergiftung konnten größere peribronchiale Blutungen und erhebliche Schwellungen der hämorrhagischen Bronchiallymphknoten festgestellt werden. Daneben fanden sich Verfettungen von Herz und Leber.

Bei der Methylbromidvergiftung konnte Brom in Harn und Leichenteilen nachgewiesen werden. Bei Sektion bald nach der Vergiftung wurde ein durchdringender Äther-, Jod- oder chloroformähnlicher Geruch festgestellt.

Tribromethan (Bromoform) ist dem Chloroform ähnlich, löst tiefe Narkose aus, wird aber rasch durch die Lungen ausgeschieden. Todesfälle sind nur nach innerer Darreichung beschrieben. Den Körperhöhlen soll bei der Sektion ein Bromoformgeruch entströmen. Es kann zu geringen lokalen Reizungen der Schleimhäute kommen. Bei chronischem Gebrauch wird hochgradige Herzmuskelverfettung beschrieben.

Äthylbromid (Bromäthyl) ist als Anästhetikum verwendet worden. Es wurde für kurze, oberflächliche Narkosen angewandt. Einzelne bekannte Todesfälle sollen auf Verunreinigungen mit Äthylbromid zurückzuführen sein. Es fand sich bei einer Sektion nach Tod durch eine Bromäthyl dosis von 20 g ein starker Bromäthylgeruch aus Lunge und Gehirn sowie Herz- und Leberverfettung. Eine größere Rolle sollen chronische gewerbliche Vergiftungen spielen, die mit Neuritis

einhergehen. Nähere Einzelheiten über Vergiftungen mit bromierten Kohlenwasserstoffen siehe Petri, S. 271-273.

Zuletzt ist ein bromierter Alkohol zu nennen, das Avertin (= Tribrom-äthylalkohol), das pharmakologisch dem Isopral und Chloralhydrat verwandt ist und rectal zugeführt wird. Bei Wärme zersetzt es sich leicht und bildet HBr und andere Zersetzungsprodukte, die zu schweren lokalen Reizerscheinungen im Darm führen können. Das Avertin besitzt eine starke Affinität zum Großhirn und wird als Narkotikum verwendet. Die Entgiftung erfolgt in der Leber und die Ausscheidung etwa zur Hälfte mit Glucuronsäure gepaart im Urin. Evtl. findet noch Ausscheidung durch den Dickdarm statt.

Im Tierversuch zeigt sich bei Vergiftung eine aufsteigende Lähmung, die an den hinteren Gliedmaßen beginnt, so wie sie auch bei Bromidvergiftung zu finden ist. Vergiftungen von Menschen, mit tödlichem Ausgang durch Kreislaufversagen, werden in der Literatur beschrieben. Dabei werden Organveränderungen, außer örtlichen Reizwirkungen an der Dickdarmschleimhaut bis zur hämorrhagischen Colitis mit Schleimhautverlust, nicht gefunden. Příbram¹ fand in der Leber nach einer Avertinnarkose und Exitus 21 mg Br/100 g Trockensubstanz. Nach der Avertinnarkose ist häufig akute Nierensperre beobachtet worden (Kallmann, Příbram¹ u.a.). Es kann sich hier um Avertinwirkung auf die Nierenepithelien handeln.

C. Bromnachweismethoden

Beim Nachweis von Brom in der Toxikologie müssen folgende Kriterien berücksichtigt werden:

1. Veraschung ohne Bromverluste
2. Trennung des Broms von dem etwa 1000fachen Chloridüberschuß
3. Spezifität des Nachweises
4. Hohe Empfindlichkeit der Methode bis zu γ -Mengen
5. Die Methode muß als Routinemethode geeignet sein.

In der Literatur werden folgende Methoden der Brombestimmung beschrieben:

- | | |
|--------------------|-----------------------|
| 1. gravimetrische | 4. elektrolytische |
| 2. titrimetrische | 5. chromatographische |
| 3. optische | 6. radiometrische |
| a) kolorimetrische | |
| b) photometrische | |

1. Gravimetrische Methoden

Gravimetrische Methoden sind für den Bromnachweis in der Toxikologie zu grob.

Es erfolgt zunächst Ausfällung der Halogene mit Ag NO_3 . Nach Ermittlung der Summe der Silbersalze wird das Silberbromid durch Chlorierung in Silberchlorid übergeführt. Aus der Differenz der Gewichte läßt sich die Brommenge ermitteln. Es sollen minimal 500 μ mit dieser Methode nachgewiesen worden sein (Fresenius, Büchner, Fessel, v. Bogdandy). Berglund wollte durch eine Mischung von KHSO_4 und KMnO_4 Brom freisetzen, ohne Chlorid zu beeinflussen (siehe weitere Versuche elektiver Bromoxydation unter 2). Bestimmung des Bromids mit Silber-salz.

Ottenssooser beschreibt ein kombiniertes, gravimetrisch-titrimetrisches Verfahren, das aus der zur Halogenausfällung titrimetrisch ermittelten Silbermenge und aus dem Gewicht des Silberhalogenidniederschlages eine indirekte Chlor-Brombestimmung möglich macht. Das Verfahren ist nur für ein Brom-Chlorverhältnis von 1 : 1 brauchbar. Wense beschreibt eine weitere kombinierte Methode, die darauf beruht, daß ein Gemisch von Chlor und Brom beim Durchleiten durch eine Vorlage von Kaliumjodidlösung eine titrimetrisch zu ermittelnde Jodmenge frei macht und außerdem das verminderte Gewicht der Salze in der Vorlage nach Verdampfen des Lösungsmittels gewogen werden kann. Aus diesen Bestimmungen werden die Brom- und Chlormengen errechnet.

2. Titrimetrische Methoden

Hier hat sich besonders die Methode von Leipert und Watzlawek² bewährt. Nach Aufschluß der Testsubstanz mit silbersulfathaltiger Chromschwefelsäure werden die freigemachten Halogene in einer Vorlage mittels NaOH gebunden. Es bilden sich in der Vorlage die Halogenide und Hypohalogenite. Bromid und Hypobromit werden durch entstandenes Hypochlorit zu Bromat oxydiert, welches jodometrisch bestimmt wird. Überschuß von Hypochlorit wird durch Formiat zerstört. Um die jodometrische Bestimmung des Bromats zu beschleunigen, werden nach Kolthoff einige Tropfen n'Molybdat-Lösung als Katalysator hinzugefügt. Auf diese Weise löst sich das Problem des Chloridüberschusses in eleganter Art (siehe auch Grangoud und Massonet, Dixon², Kolthoff und Yutzy u.a.)

Die Versuche, Chlor und Brom durch elektive Oxydation des Broms zu trennen, sind nach Hahn¹ und Gilde sowie nach Leipert³ von vornherein

abzulehnen, da sie theoretisch unmöglich sind und außerordentliche Fehlergebnisse ergeben (siehe auch die Kritik von Möller² und Oppenheimer¹. Eine lange Reihe von Autoren wären hier zu nennen: Nencki und Schoumow-Simanowsky, sowie Frey setzen Brom mit Natrium-pyrosulfat und Kaliumpermanganat frei, treiben es mit Luft in eine Vorlage mit Jodkalilösung. Das freiwerdende Jod wird dann mit Natrium-thiosulfat titriert. Toxopéus versetzt feucht mit Salpetersäure und Kaliumpermanganat unter Anwesenheit von Silbernitrat. Mit Natrium-thiosulfat werden die Silber-Halogenide gelöst und gelangen als Natrium-Halogenide in ein System von Waschflaschen, wo Brom selektiv oxydiert und schließlich jodometrisch bestimmt wird (siehe auch die Adalin-Stoffwechseluntersuchungen von Edler, die nach dem gleichen Prinzip durchgeführt wurden).

Bobtelsky und Rosowskaja-Rossienskaja, Evans, Yates, Conway und Flood, Neufeld² benützen Chrom-Schwefelsäure zur Oxydation, A. Francis und C. Harvey ein Chromsäure-Phosphorsäuregemisch. Pincussen und Roman oxydierten mit Salpetersäure und Perhydrol.

Pincussen und Roman, Behr, Palmer und Clarke (Bromoxydation mit KMnO_4 und verdünnter Phosphorsäure), Stoll und Brenken (Oxydation mit Schwefelsäure und KMnO_4), Bajtschikow schüttelten das Brom mit Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff aus und titrierten dann. Impens beschreibt ein Verfahren zum titrimetrischen Bromnachweis im Harn nach Adalinaufnahme. Nach Ätherextraktion der Halogenide werden diese als Silbersalze ausgefällt. Diese werden gewaschen und in Ammoniak gelöst. Die Lösung wird mit Cadmumpulver reduziert und auf dem Wasserbad vom größten Teil des Ammoniaks befreit. Dann Neutralisation mit Schwefelsäure, Ansäuerung mit Kalimbisulfat und Zusatz von Kaliumpermanganat. Das freigesetzte Brom wird mittels Luftstrom durch Jodlösung geleitet. Titrimetrische Bestimmung des durch Brom freigewordenen Jodes. Organisch gebundenes Brom wird nach Verseifung des Ätherextraktes mit NaOH bestimmt. Das entstandene Alkalibromid wird wie oben bestimmt.

Eine weitere titrimetrische Methode gibt Lang an.

Prinzip: HBr wird in Gegenwart starker Oxydationsmittel (Permanganat) und von HCN zu BrCN oxydiert. Brom wird dann jodometrisch bestimmt. Das Verfahren ist bei hohem Chloridüberschuß nicht verwendbar.

Lapin und Samanow trennen die Halogene in organischen Verbindungen mit metallischem Natrium in Isobutylalkohol ab bei Gegenwart von Glykol. Sie titrierten mit $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. Die von Zintl und Betz durch-

geführte potentiometrische Titration von Bromidlösungen bis zu Mengen von 70 μ in 10 ccm mit $n/1000 \text{AgNO}_3$ -Lösung ist schon bei geringem Chlorgehalt nicht mehr genau auswertbar. Sie benutzten eine versilberte Platinelektrode als Indikatorelektrode und eine Mercurosulphatzelle mit 2n-Schwefelsäure als Vergleichselektrode.

Inglis setzt Brom in organischen Verbindungen in einer Parr-Bombe mit Na_2O_2 und KNO_3 -Rohrzuckermischung frei und titriert es potentiometrisch mit AgNO_3 .

Lévy verascht ebenfalls mit Na_2O_2 und bestimmt Brom in Gegenwart von Chlor durch potentiometrische Argentometrie. Er gibt Bezugspotentiale für die Bestimmung von Br' neben Cl' an. Eine Korrektur Epsilon wird angegeben, um bei Gegenwart von Cl' nicht zu hohe Br' Werte zu erhalten. Epsilon sei reproduzierbar und hängt nur von der absoluten Menge von Cl' und Br' ab. Es werden 3 empirische Gleichungen angegeben, aus denen Epsilon berechnet werden kann.

Eine Mikrobestimmung von $\text{Cl}-$, $\text{Br}-$ und $\text{J}-$ Ionen durch coulometrische Titration mit elektrolytisch erzeugten Silber-Ionen bei konstanter Stromstärke führten Tutundžić, Doroslovački und Tatič durch. Endpunktbestimmung erfolgte mit Absorptionsindikatoren. Brom läßt sich bis zu einer Konzentration von $2,5 \times 10^{-4}$ Mol./Liter bestimmen.

Lingane beschreibt ebenfalls ein Verfahren, in dem die Halogenionen mit elektrolytisch erzeugten Silberionen coulometrisch titriert werden.

Auch elektrolytisch erzeugte Quecksilber-Ionen können zur potentiometrischen Titration der Halogenide benutzt werden (De Ford und Horn; Przybylowicz und Rogers). Przybylowicz und Rogers geben an, bis zu 0,067 mg Br' in ca. 55 ml mit einer Genauigkeit von etwa 1 % bestimmen zu können, bei geringeren Mengen bis zu 0,0067 mg Br' beträgt die Genauigkeit mehr als 5 %. Fehler treten wie bei der argentometrischen Titration durch Mitfällung auf.

Jaskowsky bestimmt Bromide in konzentrierten Chloridlösungen, indem er mit Chlorwasser alles Br' oxydiert, es in CS_2 löst und mit Thiosulfat titriert.

E. und M. Kahane trennen und bestimmen Cl' , Br' und J' nebeneinander nach Oxydation mit HNO_3 (und NaNO_2 zur Beschleunigung) durch fraktionierte Absorption in HNO_3 (Cl), Natrium-thiosulfat (Br) und NaOH (J).

3. Optische Brombestimmung

a) Kolorimetrische Methoden

Kolorimetrische Methoden gehören zu den ältesten Nachweisen des Broms. Man setzte Brom durch Chlorwasser bei saurer Reaktion frei und wies es durch das Auftreten einer Braunfärbung von Benzol, Äther, Chloroform oder Schwefelkohlenstoff nach (Spaeth, Gadamer u.a.). Justus setzte im Jahre 1907 Brom durch Natriumnitrat und konzentrierte Schwefelsäure frei und schüttelte mit Chloroform aus (braun-gelbe Farbe). Hierbei zersetzt aber die Schwefelsäure das Natriumnitrat unter Entwicklung von Stickoxyden, die auch die Ausschüttelungsflüssigkeit braun färben (Mantel, S.35). Autenrieth setzte Brom mit Kaliumpermanganat und Schwefelsäure frei und schüttelte mit Chloroform aus. Er wies bis minimal 10,7 mg Brom in 50 g Gehirn nach. Gensler bestimmte das freigesetzte Brom durch Titration mit Chlorwasser bis zum Verschwinden der Farbe. Unterer Grenzwert dieser Methode soll 1 mg Brom sein (Bernhardt und Ucko^{1,2}). Alle diese Methoden sind zu grob und nicht spezifisch.

Die Eigenschaft des Broms, mit Fluorescein das rote Tetrabromfluorescein zu bilden, wurde schon 1889 von Swarts zum Bromnachweis benutzt. Baubigny, Labat, Pillat, Hahn², Ucko¹ arbeiteten nach diesem Prinzip. Labat und Pillat setzten Brom mit Chromschwefelsäure frei. Pillat will bis zu minimal 30 γ nachgewiesen haben. Während die beiden letzten Autoren noch das Brom in eine Fluoresceinlösung abdestillierten, bestimmten Hahn² und Ucko¹ das Brom im wässrigen Ascheauszug selbst. Hahn² gibt an, mit dieser Methode Brommengen bis minimal 2 γ nachweisen zu können, bei einer Genauigkeit von 5 - 10 %. Ein 1000facher Chlorüberschuß stört dabei nicht. Beim Bromnachweis über Eosin muß berücksichtigt werden, daß auch gelbe Formen des Tetrabromfluoresceins bestehen (Beilstein).

Lorenz, Grau und Bergheimer benutzten Äthylfluorescein zum Bromidnachweis und konnten mit Hilfe von Vergleichslösungen bis zu 10 γ KBr in 50 ccm einer beliebig konzentrierten NaCl-Lösung nachweisen. Paradimethylphenylendiamin wurde von Jolles, als auch von v. Wyss^{1,2} als spezifischer Bromindikator benutzt.

Guareschi fand 1913, daß freies Brom oder Bromwasser mit Fuchsinlösung, die durch schweflige Säure entfärbt ist (= Schiffssches Reagenz), blau-violettes Bromfuchsin bildet. Freisetzen des Broms erfolgte mit Chromsäure, Chromschwefelsäure oder Permanganat. (Chlor gibt eine gelbbraune bis rötliche Farbe, Jod keine Färbung.) Es wurde versucht,

dieses Verfahren quantitativ auszuwerten. Wünsche setzte Brom mit Permanganat und Schwefelsäure frei, leitete das Gas in eine Vorlage, in der eine bestimmte Menge Reagenz enthalten war. Er verglich die entstandene Farbe mit Eichlösungen. Redonnet kritisiert bei diesem Verfahren die Schwierigkeit der Einarbeitung, auch bei direkter Anleitung durch den Erfahrenen. Oppenheimer ließ Bromentwicklung und Indikatorreaktion in einem Gefäß vonstatten gehen. Er setzte Brom mit Kalziumhypochlorit frei. Hartwich verwendet das Reagenz als Indikator bei seiner titrimetrischen Brombestimmung mit Chlorwasser. Die bisher genannten Verfahren eigneten sich jedoch nur für relativ große Brommengen, etwa nach Bromzufuhr (Leipert²). Bernhardt und Ucko^{1,2} wiesen mit Hilfe des Guareschischen Indikators Brommengen bis minimal 50 γ nach. Die Schwierigkeiten der Methode, die darin lagen, daß die Farbtiefe durch andere Aschenteile beeinflusst werden kann und die Farbtönung dem Gehalt an Brom nicht proportional ist, versuchten sie zu meistern, indem sie das Verfahren als Schwellenwertmethode ausarbeiteten. Sie bestimmten die Menge des Aschenausguges, die eben gerade noch die Reaktion ergab. Mit KBr-Standardlösungen wurden die Versuche unter gleichen Bedingungen wiederholt und so Rückschlüsse auf die Quantität gezogen. Die Herstellung des Indikators ist umständlich, der Indikator selbst nur kurz haltbar (Mantel, S.37).

Denigés und Chelle entwickelten unabhängig von Guareschi ein Verfahren, das auf demselben Prinzip beruht. Sie schüttelten das violett gefärbte Reagenz mit Chloroform aus. Damiens, Frezouls, Guillaumin und Merejkowski¹, sowie Guglieleni arbeiteten mit Modifikationen nach diesem Prinzip.

Indovina¹ schüttelt mit iso-Amylalkohol aus und kolorimetriert gegen Standardlösungen. Er will bis minimal 7 γ bestimmt haben.

Nach Leipert⁴ sind diese Ergebnisse nicht exakt, da die Voraussetzungen für das Beersche Gesetz nicht gegeben sind.

Die Eigenschaft des Phenolrots, unter Einwirkung von Hypobromitlösung bei pH = 5 blauviolett Tetrabromphenolsulfophthalein zu bilden, wurde von Stenger und Kolthoff für den Bromnachweis ausgenutzt. Sie geben eine Empfindlichkeit bis zu 2,5 γ an. Die Genauigkeit soll bei 15 - 20 % liegen. Chloride sollen nicht stören.

Bill benutzte 1868 Goldchlorid als Bromindikator. Das gelbe bis orangefarbene Goldbromid wird kolorimetrisch bestimmt. Das Verfahren ist einfach, aber nicht genau, da die Färbung vom Salzgehalt der Testlösung

beeinflusst wird (Leipert⁴). Spuren von Jod ergeben ebenfalls eine rötliche Farbe, die der durch Bromid gebildeten sehr ähnelt (Mantel, S.36). Walter^{1,2}, Katzenelbogen und Czarski, Fremont - Smith, Dailey und Sloan, Wuth und Hennicke, Ritter, Malamud, Brown und Mullins untersuchten nach diesem Prinzip. Selbst 1952 veröffentlichten Paul, Knouse und Routh ein Verfahren, das die Methode von Katzenelbogen und Czarski modifiziert. (Sie bestimmen das Goldbromid photometrisch. Siehe unter 3b.)

Hunter und Goldspink oxydieren zunächst zu Bromat. Durch KBr-Zusatz wird elementares Brom frei, das als Tetrabromrosanilin kolorimetrisch bestimmt wird. Mengen unter 5 μ g sollen mit dieser Methode bestimmt worden sein.

b) Photometrischer Nachweis

Pohl weist Brom photometrisch als Tetrabromfluorescein nach und bestimmt mit seiner Methode bei genauer Einhaltung der Arbeitsbedingungen niedrige Gamma-Mengen.

Olśzycka mißt die Violettfärbung von Bromfuchsin im Stufenphotometer. Paul, Knouse und Routh bestimmen Brom als Goldbromid photometrisch bei 470 $m\mu$. Eichkurve mit Proben, denen bekannte Bromidmengen zugesetzt sind. Gordó untersucht CCl_3OAc -Blutfiltrat, fügt zu jedem ml 0,2 ml einer 25%igen Goldchloridlösung hinzu und beobachtet den Extinktionskoeffizienten mit einem 445 $m\mu$ Filter.

4. Elektrolytische Verfahren

Elektrolytische Trennung der Halogene (Silberanode), wie sie Specketer bereits 1898 beschrieb, gab ungenaue Werte (Pribřam²). Es wurde eine geringe Spannung angelegt (0,35 V), welche die Abscheidung von Bromsilber bereits bewirkte, während eine Chlorsilberabscheidung noch nicht stattfand. Untere Erfassungsgrenze 5 mg Brom. Ein elektro-phoretisches Verfahren, das F.Lupant-André in neuerer Zeit beschreibt, eignet sich nur für die qualitative Analyse der Halogenionen nebeneinander.

Nagai schließt an die absteigende Chromatographie eine kurze Elektrolyse an und erhält damit eine Intensivierung der Trennung und gute Ionenfronten. Er empfiehlt auch, die Halogene nur der Elektropapierchromatographie in 0,25 mol Milchsäure auszusetzen (Pt-Elektroden). Anschließend wird mit $AgNO_3$ besprüht und die Flecken werden in ultravioletterm Licht beobachtet.

5. Chromatographische Verfahren

In den letzten Jahren wurden Verfahren zum chromatographischen Nachweis von Halogenionen entwickelt. De Geiso, Riemann und Lindenbaum sowie Nabivanets geben Verfahren mittels Säulenchromatographie an. Sie benutzen basische Anionenaustauscher.

Auch mit der Papierchromatographie konnte die Trennung von Halogeniden erreicht werden.

Als Lösungsmittel werden organische Basen (Pyridin, Chinolin u.a.), Alkohole (Butanol, Propanol, Methanol), Aceton und NH_3 enthaltende Substanzen verwendet. Burstall, Davies, Linstead und Wells benutzen Pyridin mit 10 % H_2O (Rf-Werte: F:0,0; Cl:0,24; Br:0,47; J:0,71) oder Aceton mit 20 % H_2O (Rf-Werte: F:0,24; Cl:0,49; Br:0,60; J:0,76). Eine Mischung von Pyridin, Butanol und Ammoniak verwenden Pollard, Mc Omie und Elbeih.

Ando und Ishii empfehlen Butanol - Picolin bei $5 - 10^\circ$ (Rf-Werte: Cl:0,19; Br:0,27; J:0,56).

Harasawa und Hayano halten Chinolin-Ammoniak-Äthanol oder Pyridin-Ammoniak-Äthylacetat-Wasser-Gemische für günstig (Rf-Werte aufsteigend von Cl über Br zu Jod). Nakano hält Lösungsmittel mit NH_3 -Gehalt für brauchbar, z.B. 4 Teile 28%iges NH_4OH mit 13 Aceton und 3 n-Butanol. Mitchell benützt 5 Teile konz. NH_4OH auf 100 Teile 2-Methoxy-Äthanol. Yamaguchi wählt Aceton - nNH_4OH (4:1). Er trennt damit Cl' , Br' , J' , ClO_3' , JO_3' , CNS' .

Zum Sichtbarmachen der Flecken wird allgemein AgNO_3 -Lösung in schwacher Konzentration verwendet.

Nakano benutzt daneben auch $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

Mitchell besprüht mit sehr verdünnter AgNO_3 -Lösung in ammoniakalischem Äthanol, läßt lufttrocknen und setzt das Papier für einige Sekunden dem Sonnenlicht aus oder verwendet 0,0005 m Pyrogallol in Äthylalkohol und läßt lufttrocknen.

Burstall, Davies, Linstead und Wells machen die Flecken mit einer Mischlösung von Silbernitrat und Fluorescein sichtbar. Es zeigen sich die dunklen Streifen der Halogene auf fluoreszierendem Grund. Ando und Ishii besprühen mit 0,2 n AgNO_3 -Lösung, waschen das überflüssige AgNO_3 mit 0,1 n HNO_3 -Lösung aus und besprühen anschließend mit 0,2 n Na_2S -Lösung (oder hängen das Papier in H_2S -Gasstrom). Nach Yamaguchi wird der Rf-Wert der Anionen kaum von der Basizität des Lösungsmittels, wohl aber sehr von der Hydrathülle der Ionen beeinflusst. Anionen und Kationen laufen getrennt voneinander im Chromatogramm. Es

besteht eine Abhängigkeit der Bewegung von Anionen von der der Kationen (F.H.Pollard, Mc Omie und Elbeih). Auch Yamaguchi bemerkt einen Einfluß der Kationen auf die Rf-Werte der Anionen.

Man kann das Brom chromatographisch als Bromid oder als Bromation nachweisen (Servigne, Yamaguchi).

Zum Problem beim Nachweis in biologischem Material wird hier, neben der Veraschung ohne Verluste, besonders der etwa 1000fache Chloridüberschuß. Nach der Methode von Burstall, Davies, Linstead und Wells zum Beispiel können 1 - 10 μ eines oder zweier Halogene in der Gegenwart der 10fachen Menge von einem oder zwei der anderen Halogene bestimmt werden.

6. Radiometrische Methoden der Brombestimmung

- a) In der Literatur der letzten Jahre findet man Angaben über die Messung der Radioaktivität von Organen und Körperflüssigkeiten nach Zufuhr von Br^{82} . Diese Messungen dürften wohl die genauesten Angaben über den Gehalt an Brom liefern. Leider sind sie in der Toxikologie nicht anwendbar.
- b) Andererseits eignet sich die Messung der Radioaktivität zum Nachweis von Brom in der Aktivierungsanalyse (Hoppe - Seyler / Thierfelder (2)).

Eine Testsubstanz wird einer starken Neutronenstrahlung ausgesetzt, dann wird ihr eine inaktive Trägersubstanz zugesetzt und eine chemische Isolierung des Elementes vorgenommen, dessen Aktivität mit einem Zähler gemessen bzw. mit der Aktivität von Eichproben verglichen werden kann. Diese Methode gestattet sicher einen empfindlichen Spurennachweis, löst aber nicht das Problem der Chlor-Brom-Trennung.

Diese Zusammenstellung will die mannigfaltigen Wege aufzeigen, auf denen versucht wurde, Brom quantitativ zu bestimmen. Allein schon die Vielzahl zeigt uns, daß sich bisher keine überragende Methode durchsetzen konnte. Wir schließen uns der Meinung von Flaschenträger und Lehnartz³ (1951) an: "Die bisherigen Br-Untersuchungen über die Biologie des "physiologischen" Broms kranken am Mangel zuverlässiger Bestimmungen."

Zur quantitativen Untersuchung des Harnbromides wird heute hauptsächlich die Oxydation des Bromides zu Bromat empfohlen, dieses dann jodometrisch bestimmt (Leipert und Watzlawek² u.a.) oder Brom wird aus dem

Bromat freigesetzt und als Tetrabromrosanilin kolorimetrisch bestimmt (Hunter und Goldspink). Auch die Goldchloridmethode findet noch Anwendung (Paul, Knouse und Routh).

II. Experimenteller Teil

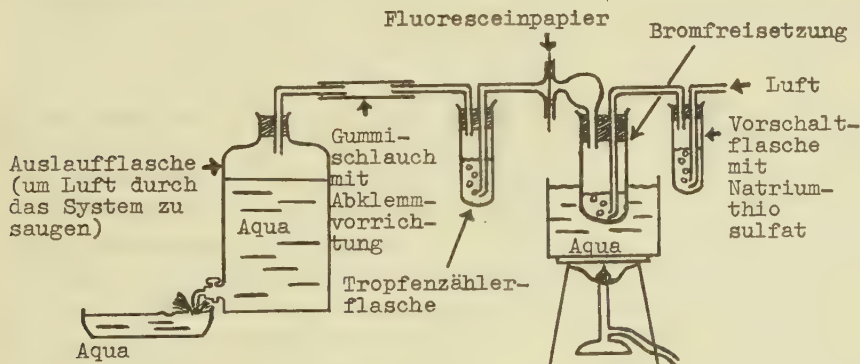
Entwicklung einer Methode zum Nachweis von Bromid im Harn

1. Versuch, ein kolorimetrisches Verfahren zu entwickeln

Es wurde versucht, die Eigenschaft des Fluoresceins, unter Bromeinwirkung in das rote Eosin überzugehen, für eine quantitative Bromnachweismethode nutzbar zu machen (siehe auch Kapitel Brombestimmungsmethoden).

In einem geschlossenen System wird Brom aus dem zu untersuchenden Material mit Chrom-Schwefelsäure bei 80 - 100° C freigesetzt. Die Bromdämpfe werden durch ein Papier gesaugt, das mit alkoholischer Fluoresceinlösung 0,1 % getränkt ist. Unter Bromeinwirkung färbt sich das Fluoresceinpapier rot.

Versuchsanordnung:



Ergebnisse: Es konnten keine sicheren Beziehungen zwischen der Intensität der Rotfärbung des Testpapieres und dem bekannten Bromgehalt des Untersuchungsmaterials festgestellt werden.

Als Fehlerquelle werden angesehen:

1. Unbestimmbare Mengen Brom schlagen sich an den Wandungen der Apparaturen und den Flanschen, die das Fluoresceinpapier tragen, nieder.
2. Chromatographisch konnte nachgewiesen werden, daß das aus Original-

flaschen verwandte Fluorescein aus mehreren deutlich trennbaren Fraktionen bestand.

3. Es zeigte sich, daß sich das Testpapier an den Stellen intensiver Bromeinwirkung nicht rot färbte, sondern eher noch intensiver gelb wurde.

2. Entwicklung eines papierchromatographischen Verfahrens

a) Gründe zur Auswahl der Papierchromatographie:

Auf der Suche nach einer geeigneten Methode müssen Spezifität, Empfindlichkeit, routinemäßige Anwendbarkeit in erster Linie berücksichtigt werden. Gute Spezifität bietet die Bromatoxydation, ist aber bei dem Verfahren nach Kolthoff und Yutzy durch den Nachteil geringer Empfindlichkeit und bei dem Verfahren nach Leipert und Watzlawek² durch Umständlichkeit und Aufwendigkeit belastet. Für die praktische Toxikologie muß ein Verfahren rasch und sicher durchgeführt werden können, vor allem aber bei geringem Materialverbrauch große Empfindlichkeit besitzen. Diese Vorzüge besitzt die Papierchromatographie, die sich in den letzten Jahren als analytisches Trennungs- und Bestimmungsverfahren auf zahlreichen Gebieten, so auch in der Toxikologie, schon gut bewährt hat.

In Vorversuchen mit Titrationsmethoden, sowohl nach feuchter, wie nach trockener Veraschung, konnte Gg. Schmidt² feststellen, daß stets Bromverluste zu beobachten waren, die die Genauigkeit der Titrationsergebnisse stark beeinträchtigten. Ohne auf die zahlreichen Fehlerquellen im einzelnen einzugehen, sei auf die eingangs gebrachte Tabelle der Literatur "physiologischer" Bromwerte hingewiesen, wonach eine Schwankungsbreite innerhalb einer Zehnerpotenz zu berücksichtigen ist. Vor allem muß beachtet werden, daß die Bromverluste bei den verwendeten titrimetrischen Methoden prozentual um so größer werden, je geringer die vorhandenen Brommengen waren. Daher war papierchromatographisch eine genügende Genauigkeit zu erwarten, die im einzelnen Falle die gewünschte Aufklärung versprach, ob ein normaler, leicht oder stark erhöhter Bromspiegel vorlag.

b) Entwicklung der Methode:

Unsere Untersuchungen beschränkten sich zunächst auf Harnproben. Es wurden "Leerharn" und Harn nach fraglicher und gesicherter Bromaufnahme untersucht. Aufbauend auf der Methode von Burstall, Davies, Linstead und Wells (siehe Brombestimmungsmethoden, Abschnitt Nr.5)

versuchten wir, im Harn Brom nachzuweisen. Wir führten zunächst eine vorsichtige trockene Veraschung unter Zugabe von einem Tropfen verdünnter Natronlauge durch und beseitigten damit die störenden organischen Substanzen. Die Abtrennung des Chlorides ist bei dem Brom-Chlor-Mengenverhältnis von 1:200 bis 1:2000 und bei den geringen Substanzmengen auf chemischem Wege nicht exakt möglich. Wir versuchten, so wenig Urin zur Untersuchung zu verwenden, daß Brom bei "normalem" Spiegel gerade noch nachweisbar sei, der Chlorgehalt aber noch nicht störend wirken sollte und führten unsere Versuche mit 0,2 ml Urin durch. In dieser Menge sollte nach einem Durchschnitt der Literaturwerte ein Gamma Bromid vorhanden sein. Nach der Veraschung wurde der Rückstand in einigen Tropfen Aqua destillata gelöst und auf ein chromatographisches Papier aufgetragen. Hier zeigte sich bereits, daß das NaCl störende Auflagerungen verursachte, so daß von vornherein ein quantitativer Transport der vorhandenen Halogene nicht zu erwarten war. Das Chromatogramm lief aufsteigend, nachdem es für einige Stunden zur Sättigung über dem Flüssigkeitsspiegel in der Glaskammer hing, etwa 5 - 6 Stunden mit Pyridin und 10 % H_2O als Lösungsmittelgemisch. Das Sichtbarmachen der Halogenflecke nach Trocknung des Papiers erfolgte nicht nach Burstall et al. mit $AgNO_3$ -Fluoresceinspray, da die so behandelten Papiere nachdunkeln und nach einigen Tagen schwarz sind. Wir strebten an, für gerichtsmedizinische und wissenschaftliche Zwecke die Versuchsergebnisse zu fixieren und verfuhrten daher unter Nutzung des photographischen Prozesses folgendermaßen: Einlegen des Papiers in 1%ige $AgNO_3$ -Lösung für einige Sekunden, danach sofort mehrmals Spülung in Aqua destillata. Nach Lichteinwirkung von einigen Minuten wurde das Papier in ein photographisches Entwicklerbad gelegt, nach 2 Minuten entnommen und unter fließendem Wasser gespült, anschließend getrocknet.

Wegen des hohen Chloridgehaltes konnte von 0,2 ml veraschtem Urin kein brauchbares chromatographisches Bild erzeugt werden. Erst bei einer Menge von 0,1 ml Urin ergab sich ein etwas besseres Bild, aber die Chloride wurden nur teilweise transportiert und gaben beim Eintauchen in $AgNO_3$ -Lösung ausgelaufene Flecken. Sie hielten auch Bromid zurück. Physiologische Bromidmengen konnten in diesem Quantum Harn nicht mehr erfaßt werden. Sie lagen bei einer Harnmenge von 0,1 ml unter 1 Gamma. Allerdings haben wir bei Harnen mit erhöhtem Bromspiegel (Urin nach: Adalingsgaben, Schlafmittelvergiftung mit Brom-Nervisal, Adalinvergiftung, Bromidtherapie) einen Bromidfleck als

Zeichen starker Bromvermehrung deutlich nachweisen können. Die Chromatogramme zeigten nach Behandlung im Entwicklerbad oft wolkige Trübungen.

c) Beseitigung methodischer Mängel:

Wir haben das Problem des hohen Chloridüberschusses dadurch zu meistern versucht, daß wir die bessere Alkohollöslichkeit der Bromide berücksichtigten und den Veraschungsrückstand mit Alkohol extrahierten. Die Chloridmenge konnte dadurch wesentlich vermindert werden. Die Bromidmenge erlitt durch die Extraktion ebenfalls einen Verlust, der zwar deutlich feststellbar war, aber weit geringer ausfiel, als der des zurückgedrängten Chlorides. Wir erhielten durch dieses Verfahren brauchbare Halogenflecke bei einem Ascheauszug von 0,5 ml Urin, wodurch wir in die Lage kamen, auch physiologische Brommengen zu erfassen. Durch die Alkoholextraktion werden auch andere störende Substanzen zurückgehalten, die bei einem wässrigen Auszug des Veraschungsrückstandes die Entwicklung eines brauchbaren chromatographischen Bildes stören. Auch durch serienmäßige Durchtestung chromatographischer Papiersorten konnten wir nach Auswahl des günstigsten Papiers eine Verbesserung der chromatographischen Bilder erzielen.

Die wolkigen Trübungen auf den Chromatogrammen wurden untersucht. Sie waren unabhängig von dem Lösungsmittelgemisch, der Belichtung und der Entwicklerlösung. Wir konnten sie als Silberniederschläge identifizieren und beseitigten sie, indem wir die Chromatogramme vor dem Eintauchen in das Entwicklerbad mehrmals gründlich spülten.

Wir untersuchten die Bedingungen der Veraschung und konnten in vergleichenden Versuchen feststellen, daß bei intensiver Veraschung die Halogenflecken auf dem Chromatogramm etwas schwächer ausgeprägt waren, als bei vorsichtiger, schwacher Veraschung. Wir ließen daher für unsere Versuche schwaches Glühen bis zur Verkohlung genügen.

Um Verunreinigungen zu vermeiden, sollen die Chromatogramme während der Behandlung nicht mit den Fingern berührt werden (NaCl!). Wir haben die Papiere an den oberen Enden einige cm umgeschlagen und den Umschlag angeheftet, so daß eine Öse entsteht. Durch diese wird ein Glasstab geschoben, an dem die Papiere während der Prozedur des Sichtbarmachens der Flecke gehalten werden. Die Chromatogramme sollen nur bis zur Lösungsmittelfront behandelt werden.

d) Endgültige Methodik:

Wir haben nach Beseitigung der methodischen Mängel schließlich das folgende Verfahren angewandt:

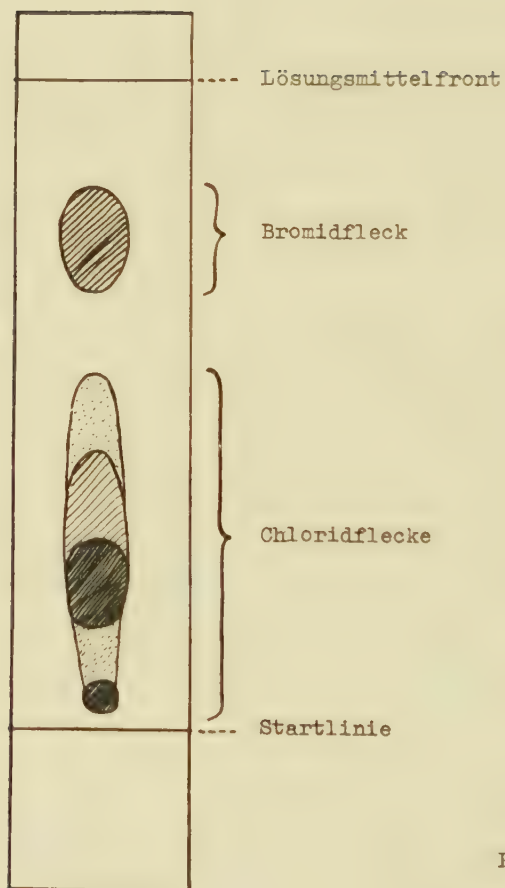
0,5 ml Urin werden in einem kleinen Porzellanschmelztiigel unter einer Infrarotlampe verdampft und der Rückstand mit 1 - 2 Tropfen konzentrierter Natronlauge bedeckt und verascht. Schwaches Glühen bis zur Verkohlung genügt. Die Asche wird mit 0,3 ml 90%igem Alkohol extrahiert, der Extrakt unter einer Infrarotlampe verdampft. Der Extraktionsrückstand wird mit 0,1 ml reinem Alkohol aufgenommen und es werden aliquote Teile der alkoholischen Lösung (9/10 und 1/10 der Gesamtmenge) auf je einen Fleck des chromatographischen Papiers übertragen. Wir benutzen die aufsteigende Papierchromatographie.

Lösungsmittel: Pyridin mit 10 % Aqua destillata.

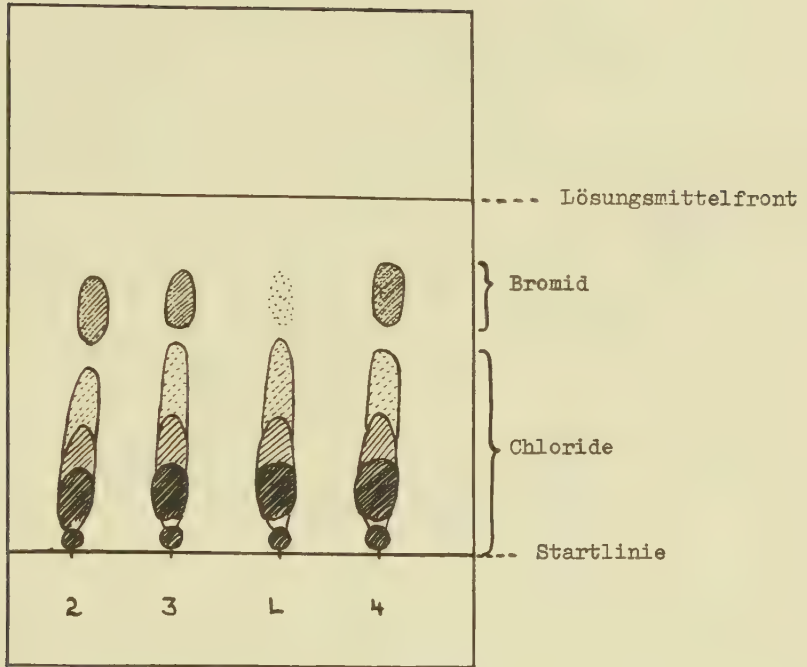
Laufzeit: 5 Stunden.

Steighöhe bei Verwendung von Papier Nr. 202 der Firma Binzer etwa 12 bis 16 cm, je nachdem wie lange das Papier zuvor in der Pyridin-feuchten Kammer hing. Sichtbarmachen der Halogenflecken: Das getrocknete Chromatogramm wird in ein 1%iges AgNO_3 -Bad getaucht und feucht mit einer 200 Watt-Lampe auf 10 cm Entfernung belichtet, bis die Halogenflecken schwarz auf weißem Grund sichtbar werden (Dauer etwa 6 Minuten). Man kann auch das Tageslicht einwirken lassen. Anschließend gründlichste Spülung des Papiers mit Aqua destillata, mindestens 3malige Erneuerung des Bades. Danach wird das gespülte Papier in ein frisch zubereitetes photographisches Entwicklerbad gelegt. (Wir benutzen Agfa-Entwickler Eikonol 10%ig.) Entnahme nach 2 Minuten, Spülen unter fließendem Wasser, Trocknen. Die Halogenflecke sind braun bis schwarz auf gelbem Untergrund sichtbar.

Chromatogramm von 0,5 ml nach obiger Vorschrift behandelten Urins von einer Patientin, die 18 Tage lang mit 3mal 0,3 g Bromural behandelt wurde. Urin vom 18. Tage der Behandlung. Der Harn enthält ca. 200 Gamma Bromid. Das Chromatogramm wurde am 24.10.57 entwickelt. Es hat sich seitdem nicht verändert.



Papier: Binzer 202



2,3 und 4 = Harn nach Bremuraltherapie

L = "Leer"-Harn einer anderen Person

Der schwach angedeutete Bromidfleck kommt
auf der Aufnahme nicht heraus.

e) Rf-Werte:

Wir haben nach obengenanntem Verfahren Reinsubstanzen von KCl, NaCl, CaCl_2 , NH_4Cl untersucht sowie NaBr, KBr, NH_4Br . Dabei ergab sich eine starke Abhängigkeit der Anionenwanderung von den Kationen. So ergab NaCl einen höheren Rf-Wert als KCl und weiter folgten in steigenden Werten NH_4Cl , CaCl_2 und MgCl_2 . Die untersuchten Bromide zeigten kaum eine Differenz, NH_4Br lag etwas höher als die Alkalibromide. Die Alkalichloridflecken lagen aber stets deutlich niedriger als die Bromidflecken.

Ein saurer Harn (pH 5,4) enthält bei entsprechender Durchschnittskost (nach Gamble):

Na	207	mg/100 ml
K	196	" "
Ca	10	" "
Mg	9,7	" "
NH_3	63	" "
Chlorid	355	" "
anorg.Phosph.	74,5	" "
anorg.Sulfat	64	" "

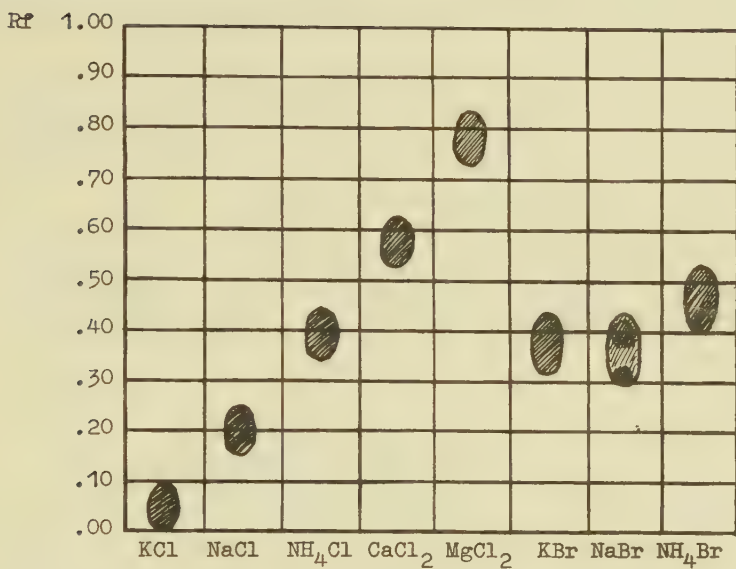
Bei unserem Verfahren wird der NH_4 -Ionenanteil zerstört, die Calcium- und Magnesiumsalze fallen als unlösliche Phosphate und Sulfate aus. So bleiben die Alkalisalze übrig, deren Trennung mit deutlich differenten Rf-Werten möglich ist.

Wir finden also auf den Chromatogrammen stets nahe der Startlinie die in 2 Flecken gestaffelten Chloride (meist mit Schwanzbildung) in schwarzer oder braun-schwarzer Farbe und darüber, oberhalb der Mitte der Steighöhe einen Bromidfleck von rotbrauner Farbe, der bei Bromidvergiftung bis dunkelbraun werden kann.

Jodide, die einen sehr hohen Rf-Wert aufweisen, also nahe der Lösungsmittelfront liegen, sind mit unserer Methode in physiologischen Mengen nicht zu erfassen.

(Die Jodide tragen etwa 1/100 der Bromidmenge; nach F. Eichholtz werden täglich schätzungsweise 40 - 300 Gamma Jod vom Körper benötigt.) In 0,5 ml Harn wären nur Bruchteile von 1 Gamma zu erwarten.

Wir konnten die Rf-Werte nach Burstall, Davies, Linstead und Wells nicht genau reproduzieren, vor allem weil die Flecke längs geformt sind und weil wir andere Papiersorten benutzten.



Papier: Schleicher und Schüll
Nr. 2043 b

Bei Papier: Binzer 202 erhöhen sich die Rf-Werte für
alle Halogenide.

f) Bestimmung der Quantität

Zur Bestimmung der Quantität haben wir

1. die Möglichkeit der Schätzung mit dem Auge an Hand einer Standardreihe von Vergleichsflecken,
2. eine Möglichkeit, die Fleckengröße planimetrisch zu ermitteln (oder Ausschneiden und Wiegen).

Nach F. Cramer ist die Fleckengröße proportional dem Logarithmus des Gehaltes an Substanz.

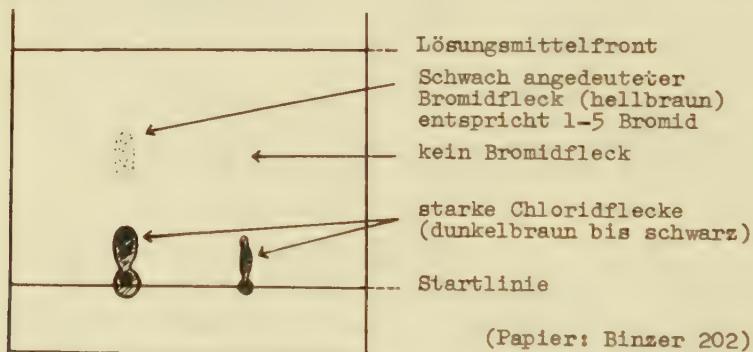
Diese Möglichkeit hat ihre Schwierigkeit in der Unschärfe der Fleckenränder und ist daher für uns praktisch unbrauchbar.

3. Besteht die Möglichkeit, neben den Flecken mit der Lösung unbekannter Konzentration mehrere Flecke in bekannter steigender Konzentration aufzugeben.

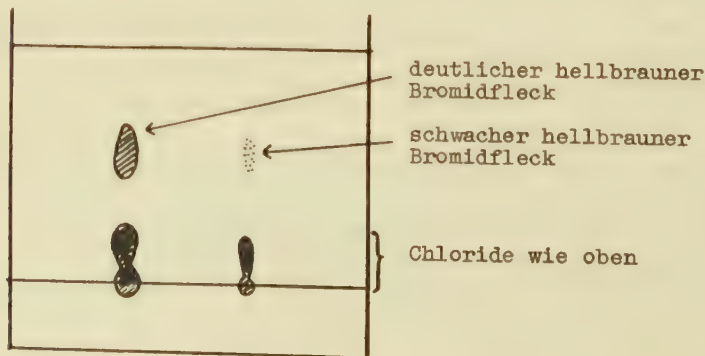
Diese Möglichkeit erscheint uns als die günstigste, vorausgesetzt, daß die Vergleichsflecken genau den gleichen Versuchsbedingungen unterworfen werden und damit einen exakten Vergleich gestatten.

Praktisch verfährt man am besten folgendermaßen:

Man setzt nur 2 Flecken mit 9/10 und 1/10 der Menge des nach obiger Vorschrift (d) behandelten Urins auf und hat nach Entwicklung der Flecken schon einen Anhalt für die Menge des im Harn enthaltenen Bromides. Weist der Harn einen normalen Spiegel auf, so ergibt sich folgendes Bild:



Harne mit erhöhtem Bromidspiegel (bei Bromsalzmedikation, Behandlung mit bromhaltigen Sedativa, Vergiftung mit bromierten Schlafmitteln) sehen folgendermaßen aus:



Liegt eine ausgesprochene Bromidvergiftung vor, so gleicht sich der Bromidfleck in Größe und Farbe den Chloridflecken an:



Legt man nach dieser Untersuchung Wert auf genaue Quantität, so kann man neben den zu untersuchenden Flecken einige Vergleichsflecken (physiologischer Harn mit Zusatz von bekannten Bromidmengen, unter den gleichen Bedingungen verascht und extrahiert) auftragen und durch Vergleich mit diesen Flecken Rückschlüsse auf die Quantität ziehen. Wir konnten feststellen, daß die Farbindensität und Größe der Bromidflecken der Menge an Bromid deutlich proportional ist.

g) Ergebnisse:

Der Nachweis von Brom im Harn hat in der forensisch-toxikologischen Analytik erhebliche Bedeutung für den Nachweis der Aufnahme anorganischer und organischer Bromverbindungen. Da in der Hauptsache anorganisches Bromid ausgeschieden wird, auch wenn es in organischer Bindung zugeführt wurde, ist die Unterscheidung, ob organisch gebundenes oder anorganisches Brom vorliegt, nur von untergeordneter Bedeutung. Es ist aber wichtig zu wissen, welcher Bromspiegel als normal, erhöht oder toxisch angesehen werden kann. Außerdem muß geklärt werden, in welcher Weise und in welchem Maße die Nieren Bromid ausscheiden. Dazu mußte eine umfangreiche Literatur durchgesehen und erörtert werden.

Die Differenzen zwischen normalem, erhöhtem und toxischem Bromspiegel im Blut liegen etwa bei Zehnerpotenzen. (Normaler Blutbromspiegel um 1 mg %, erhöhter Spiegel bei Bromidtherapie, Vergiftung mit bromierten Schlafmitteln: 10 - ... zig mg %, toxischer Spiegel bei chronischer

Bromidzufuhr in hohen Dosen (häufig) und akuter Bromidvergiftung (bei Suicid mit hohen Bromiddosen - sehr selten): über 100 mg %.

Der Harnbromspiegel ist abhängig vom Blutbromspiegel (siehe Abschnitt I B. 2). Es genügt also für den praktischen Bedarf festzustellen, ob im Harn ein normaler, erhöhter oder toxischer Bromspiegel vorliegt. Dies kann mit unserem Verfahren, wie im Abschnitt II, 2. f) beschrieben, sicher und einfach bestimmt werden. Wünscht man nach dieser grob-quantitativen Analyse einen genauen Wert, so kann man mit Hilfe von Bromid-Standardlösungen Vergleichsflecke aufsetzen, mit denen man die Quantität bis auf ± 5 Gamma ermittelt.

Auf der Suche nach einem praktisch und routinemäßig durchführbaren Nachweisverfahren für Brom im Harn wurden verschiedene bereits bekannte Methoden überprüft und ihre Brauchbarkeit für den genannten Zweck besprochen. Es zeigte sich in Übereinstimmung mit anderen Autoren, daß die Sicherheit der bis jetzt verwendeten quantitativen Bestimmungsverfahren für Brom in biologischem Material sehr zu wünschen übrigläßt und daß daher die in der Literatur genannten stark schwankenden Normal-Bromwerte sehr zurückhaltend zu beurteilen sind.

Nach zahlreichen Vorversuchen entwickelten wir eine brauchbare Bromnachweismethode, die das Prinzip der papierchromatographischen Trennung verwendet. Wir führten eine heiße Mineralisierung etwa vorhandenen organisch gebundenen Broms durch, wobei gleichzeitig störende organische Substanzen beseitigt wurden und benutzten das von Burstall, Davies, Linstead und Wells angegebene Laufmittelgemisch: Pyridin + 10 % H_2O . Das Problem des Chloridüberschusses wurde durch ein Alkohol-extraktions-Verfahren in befriedigender Weise gelöst. Gegenüber den Angaben von Burstall und Mitarbeitern, die chromatographisch nur mit einem Brom-Chlor-Verhältnis von 1:10 brauchbare Ergebnisse erhielten, konnten wir nach unserer Methode auch Flüssigkeiten mit einem Brom-Chlor-Verhältnis von 1:1000 der Chromatographie zugänglich machen, d.h., wir konnten mit biologischem Material arbeiten.

Die Darstellung der Halogenflecken mit Silbernitrat und photographischer Entwicklerlösung in der Weise, wie unter II. 2. d) beschrieben, gestattet eine haltbare Dokumentierung der Substanzflecken; ein Vorteil für die forensische Toxikologie als auch für die biochemische Forschung.

Die Methode ist spezifisch. Man findet in dem nach unserem Verfahren behandelten Harn keine anderen Halogenide mit den gleichen Rf-Werten, wie die gesuchten Natrium- und Kaliumbromide.

Es werden nur geringe Mengen Untersuchungsmaterial zur Analyse benötigt (0,5 ml Urin), die in jedem Fall eines Verdachtes der Vergiftung mit bromhaltigen Medikamenten zu erhalten sind.

Die Methode ist bei exakter Einhaltung der Arbeitsvorschriften ohne besondere Übung und ohne besondere Apparaturen durchführbar.

Die Versuchsergebnisse sind reproduzierbar.

Das Verfahren läßt sich auch bei anderen Körperflüssigkeiten sowie zur Untersuchung von bromhaltigen Arzneimitteln und anderen bromhaltigen Substanzen verwenden.

Die normalen Bromwerte liegen bei unserer Methode gerade an der Erfassungsgrenze. 1 - 5 Gamma Bromid in 0,5 ml Urin (die einem Bromspiegel von 0,2 - 1,0 mg % entsprechen) können gerade eben noch nachgewiesen werden. Erhöhter Harnbromspiegel kann halbquantitativ oder quantitativ bestimmt werden.

Harne mit Zusatz von Bromiden ergaben chromatographische Bromidflecke, deren Intensität dem Bromidgehalt proportional ist.

Harne von Personen, die sich mit bromierten Schlafmitteln vergiftet hatten (Adalin, Brom-Nervisal) sowie von Patienten, die mit bromierten Schlafmitteln längere Zeit behandelt wurden (Bromural, Adalin) ergaben deutlich erhöhte Bromwerte. Quantitative Bestimmungen konnten mit Vergleichsflecken bekannten Bromgehaltes durchgeführt werden.

Zusammenfassung

Kritische Besprechung der umfangreichen Literatur über den Bromgehalt im menschlichen Körper beim Gesunden und Kranken sowie nach Vergiftungen mit Brom enthaltenden Substanzen.

Sichtung der Literatur hinsichtlich der physiologischen und pharmakologischen Rolle des Broms.

Die vorhandenen Brombestimmungsverfahren werden auf ihre Eignung zum Bromnachweis in kleinsten Mengen biologischen Materials geprüft.

Eine praktisch anwendbare, relativ einfach durchzuführende chromatographische Bromnachweismethode wird entwickelt.

Sie zeigt bei zahlreichen Harnuntersuchungen befriedigende Ergebnisse.

Literaturübersicht

- Abelin, J.,
G. Poretti:
Über die Speicherung des
Broms in der Thyreoidea.
Schweiz.med.Wschr. 46,
1186 (1952)
- Ando, T.,
S. Ishii:
Identification of halogens
in organic compounds by means
of paper chromatography
Ref. C.A. 1952, 6037 c
- Autenrieth, W.:
Bestimmung und Verteilung des
Broms in Organen und im Blute
nach Einnahme von Bromnatrium.
XII. Mitt. über kolorimetrische
Bestimmungsmethoden.
Münch. med. Wschr. 65, 33 (1918)
- Bajtschikow, A.G.:
Ref. Bericht: Chemische Analyse
anorganischer Stoffe. Nachweis
und Bestimmung der Halogene.
Zschr. analyt. Chem. 94, 54
(1933)
- Balard, A.J.:
Zit. Goodman, S. und Gilman, A.:
The Pharmacological Basis of
Therapeutics. 2. Aufl., 156.
The Mac Millan Co., New York
(1955)
- Balázs, I.:
Adalinvergiftung (Selbstmord).
Slg. Vergiftungsf. 4, 1 (1933)
- Batrak, G.J.,
M.A. Gutina:
Über Ansammlung und Ausscheidung
von Brom im zentralen Nerven-
system des Hundes.
Ref. Chem.Z. 1957, 1478
- Baubigny, H.:
Emploi de la fluorescéine pour
la recherche de traces de brome
dans un mélange salin.
Compt. rend. Soc. biol., Paris,
125 b, 654 (1897)
- Baur, F.,
E. Oppenheimer:
Zur Theorie der Retention und
Ausscheidung aufgenommener Brom-
salze und über den Halogengehalt
des Organismus.
Arch. exper. Path. Pharmak.
94, 1 (1922)
- Behr, L.D.,
Palmer, J.W.,
H.T. Clarke:
The Estimation of Bromides
in Biological Material.
J. Biol. Chem. 88, 131 (1930)

- Beilstein, F.: Beilsteins Handbuch der organischen Chemie. (1. Ergänzungswerk) 17 - 19, 724
Verlag Julius Springer, Berlin (1934)
- Bellotti, R.,
Ravera, M.,
L. Correale: Blood and tissue bromine contents in animal tissues.
Ref. C.A. 1957, 5248 i
- Berglund, E.: Methode um Chlor und Brom quantitativ zu scheiden.
Zschr. analyt. Chem. 24, 184 (1885)
- Bernhardt, H.,
H. Ucko: (1) Über den Bromgehalt des Organismus. II. Mitt. Der physiologische Bromgehalt der Organe.
Biochem. Zschr. 170, 459 (1926)
(2) Über den physiologischen Bromgehalt des Blutes. Zugleich ein Beitrag zum Nachweis kleinster Brommengen.
Biochem. Zschr. 155, 174 (1925)
- Bill, J.H.: Zit. Leipert, Th.: Das Brom. Seine Biochemie und mikroanalytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 162 (1938)
- Birjukowitsch, P.W.,
Z.M. Schtutman: Der Bromumsatz bei manisch-depressiven Psychosen.
Ref. Chem.Z. 1956, 4781
- Bobtselsky, M.,
R. Rosowskaja - Rossienskaja: Eine Methode zur Bestimmung von geringen Bromidmengen in konzentrierten Chloridlösungen mit Hilfe einer einzigen Titration.
Zschr. anorgan. allg. Chem. 199, 283 (1931)
- Bodansky,
Modell: Zit. Goodman, S. und Gilman, A.: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2. Aufl., 158. The Mac Millan Co., New York (1955)
- Bogdandy, St.v.: Bestimmung der Chloride und Bromide in organischen Flüssigkeiten.
Zschr. Physiol. Chem. 84, 11 (1913)
- Bradley,
Davidsson,
Mc Intyre
und Rapoport: Bestimmung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens mit Br_2 .
Ref. Chem.Z. 1956, 10740

- Büchner, O.: Zit. Leipert, Th.: Das Brom. Seine Biochemie und mikroanalytische Bestimmung. Mikrochim. Acta, 2, 158 (1938)
- Burstall, F.H., Davies, G.R., Linstead, R.P., R.R. Wells: Inorganic chromatography on cellulose. Separation and detection of metals and acid radicals on strips of absorbant paper. J. Chem. Soc., London (1950), 516
- Conway, E.J., J.C. Flood: An Absorption Apparatus for the Mikro - Determination of Certain Volatile Substances. V. The Mikro - Determination of Bromide, with Application to Blood and Urine and Observations on the Normal Human Subject. Biochem. J. 30, 716 - 27 (1936)
- Cornbleet, Th.: Die Behandlung von Bromidvergiftungen mit Ammoniumchlorid. Ref. Chem.Z. 1952, 1535
- Corsini, F.: Verhalten des Broms im Liquor bei einigen pathologischen Zuständen. Ref. Chem.Z. 1956, 1644
- Cramer, F.: Papierchromatographie. 2. Aufl., 40. Verlag Chemie GmbH., Weinheim/Bergstraße (1953)
- Damiens, A.: Le brome chez les êtres vivants. Son cycle dans la nature. Chem.Weekbl. 35, 23 (1938)
- Damiens, A., S. Blaignan: Zit. Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Ergänzungswerk. 10. Die Pharmakologie anorganischer Anionen. 339 - 41. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1950)
- Denigès, G., L. Chelle: Nouveau réactif du chlore et du brome libres et combinés. Compt. rend. Soc. biol., Paris, 155, (no. 20), 1010 (1912)
- Dixon, T.F.: (1) Bromine in the Tissues. Biochem. J. 29, 86 - 9 (1935)

- (2) Zit. Hoppe - Seyler/Thierfelder:
Handbuch der physiologisch- und
pathologisch-chemischen Analyse.
3. Bausteine des Tierkörpers. 122.
Springer - Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg (1955)
- (3) The Determination of Bromine
in the Normal Blood.
Biochem. J. 29, 86 (1935)

Dunn, A.L.,
A.R. Mc Intyre:

Zit. Hoppe - Seyler/Thierfelder:
Handbuch der physiologisch- und
pathologisch-chemischen Analyse.
5. Untersuchung der Organe,
Körperflüssigkeiten und Ausschei-
dungen, 14. Springer - Verlag,
Berlin, Göttingen, Heidelberg
(1953)

Edler, W.:

Beiträge zum Verhalten des
Adalins im Stoffwechsel.
Diss. Bonn (1939)

Eichholtz, F.:

Lehrbuch der Pharmakologie.
29. Springer - Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg (1951)

Evans, B.S.:

Ein neues Verfahren zur Be-
stimmung kleiner Mengen
Bromide in Chloriden.
Ref. Chem.Z. 1931, 2, 3123

Fessel, F.:

Zit. Leipert, Th.: Das Brom.
Seine Biochemie und mikro-
analytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 158 (1938)

Finotti, A.:

Behavior of chlorine, bro-
mine, and iodine of blood
during physiological preg-
nancy, delivery, and puer-
perium.
Ref. C.A. 1952, 3633 g

Flaschenträger, B.,
E. Lehnartz:

- (1) Physiologische Chemie.
1. Die Stoffe, 250
Springer - Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg (1951)
- (2) Physiologische Chemie.
2. Der Stoffwechsel, 1. Teil,
700. Springer - Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg (1954)
- (3) Physiologische Chemie.
1. Die Stoffe, 249
Springer - Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg (1951)

Ford, D.D. de,
H. Horn:

Titrationen of halides with
electrolytically generated
mercurous ion.
Ref. C.A. 1956, 9223 e

Francis, A.,
C. Harvey:

Zit. Leipert, Th.: Das Brom.
Seine Biochemie und mikro-
analytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 160 (1938)

Fremont - Smith, F.,
Dailey, M.E.,
D.H. Sloan:

Zit. Leipert, Th.: Das Brom.
Seine Biochemie und mikro-
analytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 162 (1938)

Fresenius, C.R.:

Zit. Leipert, Th.: Das Brom.
Seine Biochemie und mikro-
analytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 158 (1938)

Frey, E.:

Die Ursache der Bromretention.
Ein Vergleich der Brom- und
Chlorausscheidung durch die
Nieren.
Zschr. exper. Path. 8, 29
(1910)

Frezouls, J.:

Der Nachweis und die Bestimmung
des Broms mit dem Reagenz von
Denigès - Chelle.
Ref. Chem.Z. 1934, 2, 2864

Friedländer, P.:

Über den Farbstoff des antiken
Purpurs murex brandaris.
Ber. Dtsch. chem. Ges. 42,
756 (1909)

Fühner, H.:

Medizinische Toxikologie.
40 - 41. Thieme - Verlag,
Leipzig (1943)

Gabrieli, E.:

Anionenausscheidung durch die
Mucosa des Magens.
Ref. Chem.Z. 1951, 1, 214

Gadamer, J.:

Lehrbuch der chemischen Toxi-
kologie, 35. Verlag Vanden-
hoeck und Ruprecht, Göttingen
(1909)

Gamble, J.L.:

Zit. Wissenschaftliche Tabellen
J.R. Geigy A.G., 285
Basel (1955)

Geiso, R.C. de,
Riemann, W.,
S. Lindenbaum:

Analysis of halide mixtures by
ion exchange chromatography.
Analyt. Chem. 26, 1840 (1954)

- Gensler, P.: Über die Wirkung der Hypnotika (Neuronal) bei normalen und bei psychisch erregten Zuständen. Arch. exper. Path. Pharmac. 77, 164 (1914)
- Gerhartz, H.: Adalin Überempfindlichkeit. Slg. Vergiftungsf. 1, A.26 (1930)
Adalinvergiftung (Selbstmord). Slg. Vergiftungsf. 3, A.238 (1932)
- Gilde, S.: Le Dosage de Traces de Brome en Présence de Chlore. Annal. chim., Paris, 4, 224 (1935)
- Goodman, L.S.,
A. Gilman: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2. Aufl. 156 - 69. The Mac Millan Co. New York (1955)
- Gordó, E.A.: Photometric method for the determination of bromine in organic liquids. Ref. C.A. 1950, 5264 c
- Gorlitzer, V.,
Mundy, v.,
E. Kowald: Die klinische Bedeutung des Blutbromgehalts. Wien. med. Wschr. 102, 1021-23 (1952)
- Grangoud, R.,
R. Massonet: Zit. Hoppe - Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 3. Bausteine des Tierkörpers, 121 Springer - Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1955)
- Greenblatt: Zit. Goodman, S. und A. Gilman: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2. Aufl. 160. The Mac Millan Co., New York (1955)
- Grigassi: Zit. Deisel, K.: Untersuchungen zur Frage der Ausscheidung von Bromdiäthylacetylcarbamid im Harn. Diss. Erlangen (1955)
- Grüninger, U.: Beitrag zur physiologischen Bedeutung des Broms im Kindesalter. Mschr. Kinderheilk. 74, 100 (1938)

- Guareschi, I.:
 Neue, sehr scharfe, auch in Gegenwart anderer Halogene brauchbare Reaktion des Broms.
 Zschr. analyt. Chem. 52, 451 (1913)
 Über die Verbreitung des Broms in der Natur und über seinen Nachweis, besonders in organischen Substanzen.
 Zschr. analyt. Chem. 52, 538 (1913)
 Neue Beobachtungen über meine neue charakteristische und scharfe Reaktion auf Brom.
 III. Mitt.
 Zschr. analyt. Chem. 52, 607 (1913)
- Guglieleni, L.:
 Natural or added bromine in foods: methods of determination.
 Ref. C.A. 1955, 13537 b
- Guillaumin, Ch.-O.,
 B. Merejkowski:
 (1) Über die Bestimmung von Brom im Blut und in Körperflüssigkeiten.
 Ref. Chem.Z. 1935, 1757
 (2) Zit. Leipert, Th.: Über das Vorkommen von Brom im normalen Organismus.
 Biochem. Zschr. 280, 417 (1935)
- Hahn, F.L.:
 (1) Über den Bromspiegel im Blut.
 Klin. Wschr. 12, 390 (1933)
 (2) Die Bestimmung von kleinsten Mengen Bromid neben sehr großen Chloridüberschüssen.
 Mikrochemie 11, 222 (1935)
- Harasawa, S.,
 S. Hayano:
 Inorganic paper chromatography. XXI. Chromatography of potassium halides.
 Ref. C.A. 1956, 13656 i
- Hartwich, G.:
 Eine neue Methode quantitativer Brom-Bestimmung.
 Biochem. Zschr. 107, 202 (1920)
- Heffter, A.,
 W. Heubner:
 Handbuch der experimentellen Pharmakologie. 3, 1. Hälfte, 300 - 20.
 Verlag Julius Springer, Berlin (1927)

- Hiatt: Zit. Goodman, S. und A. Gilman: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2. Aufl. 157. The Mac Millan Co., New York (1955)
- Hodges, H.H.,
M.T. Gilmour: Die ständige Gefahr der Bromid-vergiftung.
Ref. Chem. Z. 1952, 892
- Hoppe - Seyler/Thierfelder: (1) Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 10. Aufl. 5. Untersuchung der Organe, Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen, 454 (1953)
(2) Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 2. Allgemeine Untersuchungsmethoden, 608
Springer - Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1955)
- Howarth, F.: Studien mit einem radioaktiven Spinalanästheticum.
Ref. Chem.Z. 1950 2. 1145
- Hunter, G.: (1) Bromidbestimmung in Körperflüssigkeiten.
Ref. Chem.Z. 1954, 620
- Hunter, G.,
A. Goldspink:
(s.auch Hunter, G.(1)) Die Mikrobestimmung von Bromid in Gegenwart von Chlorid.
Ref. Chem.Z. 1955, 9865
- Hunter, G.: (2) Microdetermination of Bromide in Body Fluids.
Biochem. J. 60, 261 - 64 (1955)
- Hussar, A.E.,
Holley: Behandlung von Bromidvergiftung mit quecksilberhaltigen Diureticis.
Ref. Chem.Z. 1957, 1740
- Iberti, U.,
V. Fabbrini: Zit. Hoppe - Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 5. Untersuchung der Organe, Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen, 14 (1953)
- Impens, E.: Über die Ausscheidung des Adalins.
Therap. Gegenw. 4, 155 - 62 (1912)
- Indovina, R.: (1) Eine neue Methode zur Bestimmung des Broms im Blute.
Biochem. Zschr. 275, 286 (1935)

- (2) Zit. Leipert, Th.: Über das Vorkommen von Brom im normalen Organismus.
Biochem. Zschr. 280, 417 (1935)
- Inglis, A.S.: Die Mikrobestimmung von Chlor, Brom und Jod in Organischen Verbindungen.
Mikrochim. Acta (Wien) 1955, 934 - 43
- Jacquet: Zit. Lewin, L.: Nebenwirkungen der Arzneimittel. 158
Hirschwald - Verlag, Berlin (1899)
- Jaskowsky, J.: Schnellbestimmung von Bromid in konzentrierten Chloridlösungen.
Angew. Chem. 66, 680 (1954)
- Jolles, A.: Eine einfache, sehr empfindliche Probe zum Nachweis von Brom im Harn.
Zschr. analyt. Chem. 37, 439 (1898)
- Justus, J.: Über den physiologischen Bromgehalt des Organismus.
Virchows Arch. 190, 524 (1907)
- Kahane, E.,
M. Kahane: Quantitative separation of the three halogens.
Ref. C.A. 1954, 5019 e
- Kallmann: Zit. Petri, E.: Handbuch der speziellen Anatomie und Histologie von Henke, F. und O. Lubarsch. 10. Pathologische Anatomie und Histologie der Vergiftungen, 275
Verlag Julius Springer, Berlin (1930)
- Karp, I.,
G. Wolfsohn: Zit. Hoppe - Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 5. Untersuchung der Organe, Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen, 14 (1953)
- Katzenelbogen, S.,
T. Czarski: Zit. Hoppe - Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 3. Bausteine des Tierkörpers, 124 (1955)

- Klimke, W.,
Holthaus:
Über den Bromspiegel des Blutes bei psychomotorischen Erregungszuständen.
Dtsch. med. Wschr. 40, 1558 (1932)
- Kolthoff, I.M.:
Die jodometrische Bromatbestimmung.
Zschr. analyt. Chem. 60, 348 (1921)
- Kolthoff, I.M.,
H.C. Yutzy:
Volumetrische Bromidbestimmung nach Oxydation zu Bromat in Gegenwart von viel Chlorid.
Ref. Chem.Z. 1937, 2, 2038
- Kruse, F.:
Untersuchungen über die Blut-Liquor-Permeabilität im Säuglingsalter mittels der Walterschen Brommethode.
Arch. Kinderheilk. 86, 254 (1929)
- Krylow, O.A.:
Änderungen des Bromgehalts im Blut von Hunien während der Ontogenese.
Ref. Chem.Z. 1956, 2221
- Kuronami, T.:
Zit. Leipert, Th.: Über das Vorkommen des Broms im normalen Organismus.
Biochem. Zschr. 280, 417 (1935)
- Küssner:
Über die Anwendung der Brompräparate.
Dtsch. med. Wschr. 10, 793 (1884)
- Kwan, J.:
Vergleichende Studien über hypnotische Wirkung und intravitale Zersetzung von Adalin, Bromural und Neuronal.
Arch. intern. Pharmacodyn. 22, 331 (1912)
- Labat, J.-A.:
La présence du brome dans les organes de l'homme.
Diss. Bordeaux (1912)
Sur la présence du brome à l'état normal dans les organes de l'homme
Compt. rend. Soc. biol., Paris, 156, 255 (1913)
- Lang, R.:
Über neue jodometrische Methoden, die auf der Bildung und Messung von Jodcyanid beruhen.
IV. Bestimmung von Bromid.
Zschr. anorgan. Chem. 144, 75 (1925)

Lang, K.,
O.F. Ranke:

Stoffwechsel und Ernährung.
189. Springer - Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg (1950)

Lapin, L.N.,
R. Ch. Samanow:

Eine mercurimetrische Methode zur
Bestimmung von Halogen in organi-
schen Verbindungen.
Ref. Chem.Z. 1957, 226

Leipert, Th.:

- (1) Über das Vorkommen des Broms im
normalen Organismus.
Biochem. Zschr. 280, 417 (1935)
- (2) Das Brom. Seine Biochemie und
mikroanalytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 147 (1938)
- (3) Das Brom. Seine Biochemie und
mikroanalytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 160 (1938)
- (4) Das Brom. Seine Biochemie und
mikroanalytische Bestimmung.
Mikrochim. Acta 3, 162 (1938)

Leipert, Th.,
O. Watzlawek:

- (1) Über das Brom im Organismus
Geisteskranker.
Biochem. Zschr. 280, 434 (1935)
- (2) Die Bestimmung kleinster Brom-
mengen in biologischen Flüssig-
keiten.
Hoppe - Seylers Zschr. physiol.
Chem. 226, 108 (1934)

Lévy, R.:

Über die Mikrobestimmung von
Chlor- und Brom-Ionen nebenein-
ander. Anwendung der potentiome-
trischen Argentometrie mit
Bezugspotentialen.
Ref. Chem.Z. 1956, 2266
Applications of potentiometric
argentometry by fixed poten-
tials to elementary organic
microanalysis.
Ref. C.A. 1956, 9223 f
Microdetermination of halogens
in organic compounds.
Ref. C.A. 1956, 9224a

Lewin, L.:

Zit. Petri, E.: Handbuch der
speziellen Anatomie und Histo-
logie von Henke, F. und O.
Lubarsch. 10. Pathologische
Anatomie und Histologie der Ver-
giftungen, 132. Verlag Julius
Springer, Berlin (1930)

- Lingane, J.: Automatische, coulometrische Titration mit elektrisch erzeugtem Silber - Ion. Bestimmung von Cl- Br- und Jod-Ionen. Ref. Chem.Z. 1956, 809
- Locock, Ch.: Zit. Goodman, S. und A. Gilman: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2. Aufl. 156. The Mac Millan Co. New York (1955)
- Lorenz, R.,
Grau, E.,
E. Bergheimer: Über eine empfindliche Bromprobe. Zschr. anorgan. allg. Chem. 136, 90 (1924)
- Lupant - André, F.: Untersuchungen zum elektrographischen Nachweis von Ionen. Ref. Chem.Z. 1956, 13792
- Malamud, W.,
Brown, J.,
B.M. Mullins: Zit. Leipert, Th.: Das Brom. Seine Biochemie und mikroanalytische Bestimmung. Mikrochim. Acta 2, 162 (1938)
- Mantel, F.: Nicht-Barbitursäureschlafmittel der Harnstoffreihe. Diss. Heidelberg, 37 (1949)
- Meier, C.A.,
W. Schlientz: Neuere Untersuchungen über den Bromspiegel im Blut bei Psychosen. Klin. Wschr. 2, 1845 (1936)
- Merrill,
Weller: Zit. Goodman, S. und A. Gilman: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2. Aufl. 161. The Mac Millan Co., New York (1955)
- Meyler, L.: Schädliche Nebenwirkungen von Arzneimitteln. 119 - 20 Springer - Verlag, Wien (1956)
- Mitchell, L.C.: Separation and identification of acids by paper chromatography. I. Halides. J. Ass. Offic. Agr. Chemists 38, 832 (1955)
- Møller, O.: (1) Pharmakologie. 630 - 34 Verlag Benno Schwabe & Co., Basel (1953)
(2) Zur quantitativen Bestimmung kleiner Bromidmengen in Blut und Harn. Biochem. Zschr. 245, 282 - 89 (1932)

- Mörner, C. Th.: Zur Kenntnis der organischen Gerüstsubstanz des Anthozoen-skeletts. II. Mitt. Zschr. physiol. Chem. 55, 77 (1909)
Zur Kenntnis der organischen Gerüstsubstanz des Anthozoen-skeletts. IV. Mitt. Zschr. physiol. Chem. 88, 138 (1913)
- Nabivanets, B.I.: Separation of chlorides, bromides, and iodides by a chromatographic method. Ref. C.A. 1957, 7232 b,c
- Nagai, H.: Inorganic analysis by electro paper chromatography. (s.auch Ohara, E. und H. Nagai) Ref. C.A. 1956, 13655 g
- Nakano, S.: Analyse von Anionen durch Papierchromatographie. Ref. Chem.Z. 1956, 3660
- Nencki, M., E.O. Schoumow - Simanowsky: Studien über das Chlor und die Halogene im Tierkörper. Arch. exper. Path. Pharmak. 34, 313 (1894)
- Neufeld: (1) Zit. Møller, O.: Pharmakologie. 630 Verlag Benno Schwabe & Co., Basel (1953)
(2) Zit. Leipert, Th.: Das Brom. Seine Biochemie und mikro-analytische Bestimmung. Mikrochim. Acta 3, 160 (1938)
- Ohara, E., H. Nagai: Analysis of inorganic anions by simplified paper elektro-chromatography. Ref. C.A. 1956, 4700 c
- Olivarius, B. de F.: Psychosen bei Bromvergiftung. Ref. Chem.Z. 1955, 4158
- Olsen, H.: Die in einem Kalenderjahr einer psychiatrischen Klinik überwiesenen Fälle von Bromid-vergiftung. Ref. Chem.Z. 1957, 993
- Olszycka, L.: Zit. Leipert, Th.: Das Brom. Seine Biochemie und mikro-analytische Bestimmung. Mikrochim. Acta 3, 162 (1938)

Oppenheimer, E.:
(s. auch Baur, F. und
E. Oppenheimer)

Eine neue Methode zur Bestimmung
des Broms in kleinsten Mengen.
Arch. exper. Path. Pharmak.
89, 17 (1921)

Ottenssooser, F.:

Bestimmung von Brom neben Chlor.
Arch. exper. Path. Pharmak.
122, 77 (1927)

Paul, W.D.,
Knouse, R.W.,
J.I. Routh:

A modification of the gold
bromide method for determining
bromides in blood and spinal
fluids.
J. Amer. Pharmaceut. Ass. 41,
205 - 07 (1952)

Petri, E.:

Handbuch der speziellen Anatomie
und Histologie von Henke, F. und
O. Lubarsch. 10. Pathologische
Anatomie und Histologie der Ver-
giftungen.
Verlag Julius Springer, Berlin
(1930)

Pillat, A.:

Über einige Versuche, Brom in
normalen menschlichen Organen
nachzuweisen.
Hoppe - Seylers Zschr. physiol.
Chem. 108, 158 (1919/20)

Pincussen, L.,
W. Roman:
(s. auch Roman, W.)

Über den Einfluß der Bestrahlungen
auf die Fraktionen des Jods und
Broms im Tierkörper, besonders
nach Zufuhr von Jodsalzen.
Biochem. Zschr. 216, 336 (1929)

Pohl, F.A.:

Zur photometrischen Bestimmung
von Brom als Tetrabromfluores-
cein.
Zschr. analyt. Chem. 149, 68 - 73
(1956)

Pollard, F.H.,
Mc Omie, J.F.W.,
I.I.M. Elbeih:

Analyse anorganischer Verbindun-
gen durch Papierchromatographie.
Ref. Chem.Z. 1951, 2, 3495

Příbram, E.:

- (1) Zit. Petri, E.: Handbuch der
speziellen Anatomie und Histo-
logie von Henke, F. und O.
Lubarsch. 10. Pathologische
Anatomie und Histologie der Ver-
giftungen, 275.
Verlag Julius Springer, Berlin
(1930)
- (2) Untersuchung über das Vorkommen
von Brom in normalen menschlichen
Organen.
Zschr. physiol. Chem. 49, 457
(1906)

- Przybylowicz, E.P.,
L.B. Rogers: Coulometrische Titrationen mit elektrolytisch erzeugtem Quecksilber (I) und (II). Bestimmungen von Chlorid, Bromid und Jodid. Ref. Chem.Z. 1956, 11024
- Quastel, J.H.,
E.D. Yates: Removal of Bromine from the Blood in Cases of Mental Disorder. Biochem. J. 28, 1530 - 35 (1934)
- Redonnet, T.A.: Beiträge zur Therapie der Narkose. Arch. exper. Path. Pharmak. 84, 339 (1919)
- Ritter, F.H.: Zur Methodik und Kritik der Bestimmung des Permeabilitätsquotienten nach Walter. Gleichzeitig ein Beitrag zur absoluten quantitativen Bestimmung des Br' neben Cl'. Zschr. Neurol., Berlin, 148, 112 (1933)
- Roman, W.: Gemeinsame Bestimmung der Halogene in organischen Substanzen. Biochem. Zschr. 207, 416 (1929)
- Sacristan, I.M.,
M. Peraita: Über den Bromspiegel des Blutes bei manisch-depressivem Irresein. Klin.Wschr. 12, 469 (1933)
- Schmalfuss: Ein Fall der Vergiftung durch Brom. Vjschr. gerichtl. Med., Berlin, 50, 37 (1888)
- Schmidt, G.: (1) Vorkommen und Ausscheidung von α -Äthyl- α -oxybuttersäure nach Adalinaufnahme. Arch.exper.Path.Pharmak. 229, 67 - 74 (1956)
(2) Die toxikologische Harnanalyse zum Nachweis von Barbitursäure- und Harnstoffabkömmlingen. Habil-Schrift Erlangen (1957)
- Sehrwald: Zit.Petri, E.: Handbuch der speziellen Anatomie und Histologie von Henke, F. und O. Lubarsch. 10. Pathologische Anatomie und Histologie der Vergiftungen, 130. Verlag Julius Springer, Berlin (1930)

- Servigne, Y.: Paper partition chromatography of halogen salts.
Ref. C.A. 1955, 7445 1
- Snell: Zit. Petri, E.: Handbuch der speziellen Anatomie und Histologie von Henke, F. und O. Lubarsch. 10. Pathologische Anatomie und Histologie der Vergiftungen. Verlag Julius Springer, Berlin (1930)
- Spaeth, E.: Untersuchungen des Harnes. 4. Aufl. 654.
Verlag J.A. Barth, Leipzig (1912)
- Specketer, H.: Über eine quantitative elektrolytische Trennungsmethode der Halogene Chlor, Brom und Jod. Zschr. Elektrochem. 4, 539 (1898)
- Ssidelnikowa, Je.F., I. Rosina: Über den Bromumsatz bei Patienten mit tuberkulöser Meningitis. Ref. Chem. Z. 1956, 8686
- Stenger, V.A., I.M. Kolthoff: The Detection and Colorimetric Estimation of Mikro Quantities of Bromide. J. Amer. Chem. Soc. 57, 831 (1935)
- Stoll, A., B. Brenken: Eine Methode zur quantitativen Bestimmung kleiner Mengen von Brom in Körperflüssigkeiten und Organen. Biochem. Zschr. 268, 229 (1934)
- Straub, J.: Über den normalen Bromgehalt des menschlichen Blutes. Biochem. Zschr. 303, 398 (1939)
- Swarts, F.: Sur un nouveau procédé de rechercher le brome. Bull. Acad. méd., Belgique, 3, 17 (No.5), 359 (1889)
- Takeda, S.: Untersuchungen über das Brom-ural in bezug auf seine Verteilung und Zersetzung im tierischen Organismus. Arch. intern. Pharmacodyn. 21, 203 (1911)
- Toxopéus, M.A.B.: Die Verteilung des Broms im Organismus. Arch. exper. Path. Pharmak. 149, 263 (1930)

- Turetzkaja, E.Ss.: Jod und Brom in der Schilddrüse des Menschen.
Ref. Chem.Z. 1956, 9780
- Tutundžić, P.S.,
Doroslovački, I.,
O. Tatić: Coulometrische Argentometrie.
Quantitative Bestimmung von Cl-, Br- und Jod-Ionen.
Ref. Chem.Z. 1956, 10557
Ref. C.A. 1956, 2362 i
- Ucko, H.: (1) Investigations into the Presence and the Role of Bromine in the Body.
Biochem. J. 30, 992 (1936)
(2) The Presence and the Role of Bromine in the Body.
Biochem. J. 30, 992 - 1000 (1936)
- Uranow, Ju. W.: Die Verteilung von Brom im Nervensystem bei verschiedenen funktionellen Zuständen.
Ref. Chem.Z. 1956, 2523
- Urechia, C.I.,
A.Retezeanu: Le brome du liquide céphalo-rachidien et du sang (sérum, plasma, globules).
Compt. rend. Soc. biol., Paris, 115, 312 (1934)
- Walter, F.K.: (1) Studien über die Permeabilität der Meningen. I. Mitt.
Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Permeabilität und die allgemeinen Grundlagen der normalen und krankhaften, veränderten Permeabilität.
Zschr. Neurol., Berlin, 95, 522 (1925)
(2) Untersuchungen über die Permeabilität der Meningen.
Zschr. Neurol., Berlin, 47, 380 (1919)
- Wense: Zit. Mantel, F.: Nicht Barbitursäureschlafmittel der Harnstoffreihe.
Diss. Heidelberg (1949)
- Werchowskaja, I.N.
= Verkhovskaya, I.N.
Werchowskaja, I.N.: (1) Die Rolle des Broms im tierischen Organismus. I. Mitt.
Die Verteilung von Bromiden im Organismus von Ratten, bestimmt mit Hilfe von Radiobrom.
Ref. Chem.Z. 1950, 2, 430

- (2) Distribution of bromides in various parts of the central nervous system of dogs and rabbits as studied with the aid of bromine radioisotope (Br^{82}).
Ref. C.A. 1953, 5514 d, e
- (3) Bromine and its specific significance to the organism.
Ref. C.A. 1955, 469 a

Wikoff, H.L.,
Brunner, R.A.,
H.W. Allison:

The Normal Bromine Content of the Blood of Healthy Individuals.
Amer. J. Clin. Path. 10, (Nr. 3),
234 (1940)

Wischnewski, Ju.B.:

Änderungen des Bromgehalts im Blut bei Kindern mit Rheumatismus im Zusammenhang mit Schädigungen der höheren Nerventätigkeit.
Ref. Chem. Z. 1956, 2221

Wischnewski, Ju.B.,
L.A. Kabranowa:

Über Schwankungen des Bromgehalts im Blut mit dem Alter gesunder Kinder.
Ref. Chem. Z. 1956, 6728

Wojahn, K.:

Beiträge zur Adalinbestimmung im Gewebe.
Diss. Kiel (1938)

Worobjew, Je.I.
= Vorob'ev, E.I.
Worobjew, Je.I.:

Die Verteilung von Brom im Organismus weißer Ratten.
(= The distribution of bromine in the organism of white rats.)
Ref. Chem. Z. 1955, 11617
Ref. C.A. 1955, 16142 e, f

Wünsche, F.:

Eine Methode zur Bestimmung von Brom.
Arch. exper. Path. Pharmak. 84,
328 (1919)

Wuth, O.,
A. Hennicke:

Weitere Grundlagen zur Bromtherapie. I. Eine neue Methode zur klinisch-quantitativen Brombestimmung im Urin. II. Eine Kombinationsmethode zur Ermittlung des relativen Bromgehalts.
Zschr. Neurol., Berlin, 145,
721 (1933)

Wyss, H. v.:

- (1) Über das Verhalten der Bromsalze im menschlichen und tierischen Organismus. I. Mitt.
Arch. exper. Path. Pharmak. 55,
263 (1906)

- (2) Über das Verhalten der Bromsalze im menschlichen und tierischen Organismus. II. Mitt. Arch. exper. Path. Pharmak. 59, 186 (1908)
- (3) Die pharmakologischen Grundlagen der Bromidtherapie bei der genuinen Epilepsie. Dtsch. med. Wschr. 39, 345 (1913)
- Yamaguchi, K.: Analysis of inorganic anions by paper chromatography. Ref. C.A. 1954, 3200 i
- Yates, E.D.: Zit. Leipert, Th.: Das Brom. Seine Biochemie und mikroanalytische Bestimmung. Mikrochim. Acta 3, 160 (1938)
- Zintl, E.,
K. Betz: Potentiometrische Mikrotitrationen. Zschr. analyt. Chem. 74, 330 (1928)
- Zondek, H.: Entgegnung zur Arbeit: "Zur Kenntnis des Bromspiegels" (Holtz und Roggenbau). Klin. Wschr. 12, 1411 (1933)
- Zondek, H.,
A. Bier: (1) Brom im Blute bei manisch-depressivem Irresein. Biochem. Zschr. 241, 491 (1931)
- (2) Der Bromgehalt der Hypophyse und seine Beziehungen zum Lebensalter. II. Mitt. Klin. Wschr. 11, 759 (1932)
- (3) Brom im Blute bei manisch-depressivem Irresein. I. Mitt. Klin. Wschr. 11, 633 (1932)
- (4) Hypophyse und Schlaf. III. Mitt. Klin. Wschr. 11, 760 (1932)
- (5) Brom im Blute bei Psychosen. Klin. Wschr. 12, 55 (1933)

Herrn Privatdozent Dr. Gg. Schmidt danke ich für die Anregung zu dieser Dissertation. Unter seiner Leitung habe ich die Arbeit durchführen können.

Herrn Professor Dr.Dr. E. Weinig danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.

Die experimentellen Untersuchungen wurden zum Teil durch eine Sachbeihilfe von der Deutschen Forschungsgemeinschaft in dankenswerter Weise unterstützt.

L e b e n s l a u f

- - - - -

Am 19.1.1928 wurde ich, Dietrich Boettcher, in Preußisch-Eylau/Ostprien als Sohn des Oberrentmeisters Arthur Boettcher und seiner Ehefrau Ilse geb. Jester geboren. Nach 3jähriger Volksschulausbildung besuchte ich die Oberrealschule in Potsdam, an der ich am 16.7.1946 die Reifeprüfung ablegte. Nach Tätigkeit als Krankenpfleger und Praktikant im Städt. Krankenhaus Potsdam, sowie als Volontär in der Redaktion des Chemischen Zentralblattes, wurde ich im Sommersemester 1948 zum Studium der Medizin an der Humboldt-Universität zu Berlin zugelassen. Dort legte ich am 4.3.1949 den ersten Teil der ärztlichen Vorprüfung ab. Nach Fortsetzung des Studiums an der Freien Universität Berlin bestand ich dort am 6.8.1954 den zweiten Teil der ärztlichen Vorprüfung. Den klinischen Teil des Studiums absolvierte ich in Erlangen und legte dort am 8.8.1957 das medizinische Staatsexamen ab.

